Beitrag zur Kenntnis der Inhaltsstoffe der Herba Achilleae moschatae

Inaugural-Dissertation

der medizinischen Fakultät der Universität Bern
zur Erlangung der Würde eines Doctor pharmaciae

vorgelegt von

Toni Anliker, Apotheker
von Gondiswil (Bern)

UNIONSDRUCKEREI BERN (GENOSSENSCHAFT) - 1942

Beitrag zur Kenntnis der Inhaltsstoffe der Herba Achilleae moschatae

Inaugural-Dissertation

der medizinischen Fakultät der Universität Bern
zur Erlangung der Würde eines Doctor pharmaciae

vorgelegt von

Toni Anliker, Apotheker
von Gondiswil (Bern)

Auf Antrag des Herrn Prof. Dr. **P. Casparis** von der Medizinischen Fakultät zum Druck als Doktordissertation genehmigt.

Bern, den 18. Juli 1941.

Der Dekan der Med. Fakultät:
Prof. Dr. **A. v. Muralt.**

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Curriculum vitae.

Ich wurde geboren am 30. September 1913 in San Miguel, El Salvador C. A., als ältester Sohn des Adolf und der Maria geb. Meister von Gondiswil. Im Jahre 1924 brachten mich meine Eltern nach Bern, um mich hier in ihrer alten Heimat schulen zu lassen. Ich besuchte das städtische Gymnasium und bestand im Herbst 1933 die Maturitätsprüfung an der Literarschule. Hierauf widmete ich mich an der Universität Bern dem Studium der Pharmazie und absolvierte das Staatsexamen als Apotheker im Frühjahr 1938. Seither arbeitete ich, soweit ich nicht durch den Militärdienst verhindert war, ununterbrochen bei *Herrn Prof. Dr. P. Casparis* an meiner Dissertation.

Ich möchte nicht unterlassen, allen denjenigen, die mir während meiner Studienzeit ihr Wohlwollen und ihre menschliche Anteilnahme bewiesen haben, herzlich zu danken. Vor allem bin ich zu ganz besonderem Danke meinem hochverehrten Lehrer, *Herrn Prof. Dr. P. Casparis,* für die anregende Förderung meiner wissenschaftlichen Ausbildung verpflichtet. Grossen Dank schulde ich auch *Frau Dr. Kämpf-Mitrea* für die Ueberwachung der praktischen Arbeiten zu meiner Dissertation.

Inhaltsverzeichnis.

EINLEITUNG Seite

1. Botanische Klassifizierung und Vorkommen der Droge 5
2. Herba Achilleae moschatae in der Volksheilkunde 6
3. Die Inhaltsstoffe der Iva 7
   a) Das aetherische Oel 8
   b) Der harzige Anteil und die Bitterstoffe der Iva 9

EXPERIMENTELLER TEIL

I. Vorversuche

1. Extraktionsversuche 13
2. Chromatographische Versuche 14

II. Hauptuntersuchung

1. Aetherextrakt 24
2. Chloroformextrakt 31
3. Methylalkoholextrakt 36
4. Der Bitterstoff 49
5. Extrakt mit 10%igem Alkohol 52

III. Zusammenfassung 53

Einleitung.

1. Botanische Klassifizierung und Vorkommen der Droge.

Herba Achilleae moschatae [1]) ist das zur Blütezeit, Juni-August, gesammelte und am Schatten bei nicht über 35° getrocknete Kraut verschiedener, zur Familie der Compositen gehörender Achilleaarten, besonders aber folgender Stammpflanzen: *Achillea moschata Wulfen, Achillea nana L., Achillea atrata L., Achillea erba rotta (herba rota) All., subsp. moschata Vaccari.*

Als Synonyme sind in den botanischen und pharmakognostischen Handbüchern auch anzutreffen: *Achillea Livia Scop., Achillea Iva Scop., Achillea Genipi Murr., Ptarmica moschata D. C.; Ptarmica nana D. C.; Ptarmica atrata D. C.; Ptarmica erba rotta (herba rota) D. C.*

Die Alpenschafgarbe oder Iva ist eine ausschliesslich alpine Pflanze. Sie wächst auf kalkarmen Böden in trockenen Felsritzen, auf Abwitterungshalden, Moränen, Felsblöcken, Alluvionen, in Zwergstrauchheiden, trockenen Magerwiesen und auf Alpweiden. Einzig die Spezies Achillea atrata gedeiht auf Kalkboden. Das Hauptverbreitungsgebiet der Iva liegt in den südlichen und zentralen Alpen in Höhenlagen zwischen 1500 m und 3000 m. Im Oberengadin ist sie auf 3255 m, im Aarmassiv sogar auf 3400 m Höhe angetroffen worden. Die Iva ist eine ausdauernde, rasenbildende Pflanze. Je nach Stammpflanze ist die Droge mehr oder weniger stark behaart.

Achillea moschata hat einen stielrunden, fast kahlen Stengel und kahle, kammförmig fiederteilige Blätter mit geflügelter, ganzrandiger Spindel und lanzettlichlinealen ganzrandigen oder 1- bis 3-zähnigen Zipfeln. Die Blütenkörbchen sitzen zu 5 bis 9 auf dem Stengel in einfachen Doldentrauben mit dunkelroten, am Rand gewimperten Hüllblättchen und 6 rein weissen Strahlenblüten.

Achillea nana ist langhaarig, fast wollig-zottig. Die Endzipfel der Blätter sind eiförmig oder lanzettlich, stachelspitzig. Die am Ende des Stengels kopfig gedrängten Blütenkörbchen haben braun berandete Hüllblättchen und an der Spitze braungefärbte Spreublättchen.

Achillea atrata hat einen meist abstehend-behaarten Stengel. Die glänzend dunkelgrünen Blätter sind zwei- bis dreifach fiederschnittig mit linealen, zugespitzten, fast borstigen Zipfeln. Die Blüten be-

---

[1]) **Hegi,** Illustrierte Flora von Mitteleuropa, VI/2, S. 555 ff.
Thoms, Handbuch der Pharmazie, V/2, S. 1658.
Vogl, Pharmakognosie, S. 49.
Zörnig, Arzneidrogen, II, S. 264.
Tschirch, Handbuch der Pharmakognosie, IV/2, S. 812.

stehen aus 8 bis 10 blendend weissen Strahlenblüten und gelblich-weissen Röhrenblüten im Zentrum. Die unten am Körbchen liegenden Hochkelchblätter sind grün, doch schwärzlich-rotbraun berandet.

Achillea herba rota dagegen ist ganz kahl. Der Stengel trägt sitzende, keilförmige, gegen die Spitze gesägte, drüsig braun punktierte und etwas runzelige Blätter. Die Blütenkörbchen sind gestielt, eiförmig und haben eirunde, braunberandete kahle Hüllblättchen.

Die Deckhaare der verschiedenen Arten sind denjenigen von *Achillea millefolium L.* ähnlich, das heisst wir finden Geisselhaare auf Stengel, Blatt und Hüllkelchblatt sowie Kompositendrüsenhaare auf Stengel, Blatt, Hüllkelchblatt, Krone und Fruchtknoten. Die Geisselhaare bestehen aus 4—6 kurzen, zylindrischen Stielzellen und einer langen, häufig geschlängelten Endzelle, die jedoch meist abgefallen ist.

Die Blätter der Droge sind von *Weiss* [2]) anatomisch untersucht worden. In seiner Dissertation veröffentlicht er eine Bestimmungstabelle, mit deren Hilfe die vier Arten — Achillea moschata, Achillea nana, Achillea atrata, Achillea herba rota — leicht bestimmt werden können.

2. Herba Achilleae moschatae in der Volksheilkunde.

Beim Zerreiben der Droge fällt sofort ein eigentümlicher, durchdringender, aromatisch-moschusartiger Geruch auf. Das Kraut besitzt einen angenehmen, kräftigen, gewürzhaft-bitteren Geschmack. Es ist deshalb nicht verwunderlich, dass die Alpenschafgarbe Eingang als Arzneipflanze in den Kräuterschatz der Volksmedizin gefunden hat.

In einer von *Affolter* [3]) herausgegebenen Schrift heisst es, dass *Conrad Gesner* im Jahre 1559 eine « iva arthritica et moschata » aus dem Misox in seinen Garten nach Zürich verpflanzt habe, dass sie aber ohne zu blühen zugrundegegangen sei. *Gesner* soll dem deutschen Arzte *Occo* berichtet haben, die Iva werde gegen Epilepsie der Kinder verwendet, und er selber halte sie für äusserst heilkräftig. Auch *Durish Campell* erwähne in seinem Werk « De Alpibus Rhaeticis » aus dem Jahre 1570 die Iva als zuträgliches Mittel gegen Krämpfe kleiner Kinder. *Joh. Jak. Scheuchzer* soll in der Beschreibung seiner zweiten Alpenreise vom Jahre 1703 berichten, dass im Bergell eine « Herba da munt » oder « Iva » genannte Pflanze gegen

[2]) **Weiss G.**, Beiträge zur Anatomie des Laubblattes offizineller und pharmazeutisch gebräuchlicher Compositen-Drogen, Diss. Basel 1925.

[3]) **Affolter J.**, Sammlung der interessantesten geschichtlichen Documente und Mitteilungen über die Iva-Pflanze (Achillea moschata), Chur 1870.

Frauenkrankheiten, welche von Erkältungen herrührten, wie auch gegen Diarrhöe und Magenbeschwerden mit Erfolg angewendet werde. Auch *Albrecht von Haller* führe in seiner « Historia stirpium indignarum Helvetiae » aus dem Jahre 1768 den aus der Berg- oder Alpenschafgarbe gebrauten Tee als schweisstreibendes Mittel an.

Hegi [4]) erwähnt ebenfalls, dass schon *Gesner* die Art in seinem « Hortus Germaniae » als « Iva moschata Rhaetis » aufführt und dass *Parkinson* und *C. Bauhin* ihr den Namen « Tannacetum alpinum » gegeben haben.

Die Namen, welche die Alpenschafgarbe bei der Bevölkerung der Alpenländer führt, lassen sich aus den Eigenschaften der Pflanze und ihrer Anwendung ableiten. Im romanischen Graubünden heisst die Pflanze «iva», «flur d'iva», «plaunta d'iva». Der Name Iva wird vom lateinischen « abigere = abtreiben » abgeleitet, was darauf schliessen lässt, dass die Droge als Abortivum gebraucht wird. Die Namen Moschus-Schafgarbe, Bisam-Schafgarbe, Moschuskraut, Bisamkraut, Achillée musquée, Moschus-Iva, Moschusgarbe sind durch den moschusartigen Geruch der Pflanze erklärlich. Im Engadin und Prättigau wird die Bergschafgarbe auch Wildfräuleinkraut genannt, und damit wird sie in Beziehung gebracht zu den « wilden Fräulein », die als Berggeister in den Volkssagen eine grosse Rolle spielen. Der Name « Frauenkraut » wiederum weist auf die Anwendung der Alpenschafgarbe bei Frauenkrankheiten hin. Der gute Ruf, den die Ivapflanze bei den Einheimischen als bewährtes Heilmittel bei Appetitlosigkeit, Magenverstimmungen, Blähungen und Durchfall genoss, veranlasste in den sechziger Jahren des vorigen Jahrhunderts den Apotheker S. Bernhard in Samaden, aus dem Kraut drei galenische Präparate, ein Ivabitter, einen Ivalikör und einen Ivawein herzustellen. Heute noch wird die Alpenschafgarbe zur Fabrikation des « Maloja-Bitter » verwendet. Ein Extrakt soll in den « Brandtschen Schweizerpillen » [5]) sowie in den « Sanga-Pillen » enthalten sein.

Während in « Chrut und Uchrut » von *Künzle* [6]) die Iva keine Erwähnung findet, wird sie in « Unsere Heilpflanzen » von *Flück* [7]) aufgeführt.

3. Die Inhaltsstoffe der Iva.

Da das Interesse für die Alpenschafgarbe vor allem in den sechziger Jahren des vorigen Jahrhunderts sehr rege war, stammen die

---

[4]) **Hegi,** a. a. O.

[5]) **Apotheker-Zeitung,** 1886, S. 6, und 1888, S. 103.

[6]) **Künzle Joh.,** Chrut und Uchrut. Praktisches Heilkräuterbüchlein, Ausgaben 1912 und 1925.

[7]) **Flück H.,** Unsere Heilpflanzen, Thun 1941.

Arbeiten, die sich mit dieser Droge beschäftigen, ausschliesslich aus jener Zeit. Die von *Wehmer* [8]) aufgeführten Inhaltsstoffe der Iva sind daher aus Untersuchungen und Veröffentlichungen jener Zeit entnommen. *Wehmer* führt an:

1. Ein ätherisches Oel, das Ivaöl, welches gebundene Palmitinsäure, alkoholische Bestandteile, einen Aldehyd (Valeraldehyd?) und l-Campher bei 0,41% ätherischem Oel enthält.
2. Drei unsichere amorphe Bitterstoffe, Ivain, Achillein und Moschatin.
3. Stearinsäure.
4. Nach späteren Angaben einen aromatischen Körper, bestehend aus Weichharz und einer Harzsäure sowie einen Bitterstoff von Kohlehydratcharakter.

Es scheint mir nicht ohne Interesse zu sein, die bis heute über die Iva veröffentlichten Arbeiten zu verfolgen, besonders um die Methoden, welche die Verfasser zu ihren Resultaten führten, kennen zu lernen.

a) Das ätherische Oel.

Das ätherische Oel ist derjenige Inhaltsstoff der Iva, der am gründlichsten untersucht worden ist. *von Planta-Reichenau* [9]), der als erster die Iva auf ihre Inhaltsstoffe untersucht hat, erhielt das ätherische Oel durch Wasserdampfdestillation der Droge. Er beschreibt dieses als ein bläulich-grünes, eigentümlich riechendes und an Pfeffermünze erinnerndes ätherisches Oel mit einem spezifischen Gewicht bei $+15^0$ von 0,9346. Das nach dem Trocknen über Chlorcalcium analysierte ätherische Oel soll die Formel $C_{26}H_{40}O$ besitzen. Bei der fraktionierten Destillation ging die Hauptmenge zwischen 170^0 und 210^0 über als schwach gelbes, klares, aromatisch riechendes und bitter schmeckendes Oel, dem *von Planta-Reichenau* den Namen *Ivaol* gab und für das er in einer Elementaranalyse die Formel $C_{24}H_{40}O_2$ gefunden hat. Der bei dieser Destillation zurückgebliebene braune Rückstand war klebrig-zäh. Der Verfasser betrachtete das Ivaöl als eine Lösung dieses harzigen Rückstandes in Ivaol.

Gawalowski [10]) untersuchte ein Ivaöl, das von einem in Böhmen aus Samadener Samen kultivierten Ivakraut gewonnen wurde. Von einer chemischen Formel des raffinierten Ivaöls darf nach *Gawa-*

[8]) **Wehmer,** Die Pflanzenstoffe, 1935.

[9]) **von Planta-Reichenau,** Jahresberichte der Pharmazie V und VI, 1870—1871.
Annalen der Chemie und Pharmazie CLV, S. 145—161.

[10]) **Gawalowsky A.,** Die Alpenschafgarbe, deren Medizinildroguen und Specifica. Pharm. Post 1888, S. 48/49, und 1891, S. 8.

lowski nicht gesprochen werden. Er ist der Ansicht, dass der zwischen 169° und 210° übergehende Anteil aus mindestens zwei Terpenen besteht.

Bruns[11]) erhielt das ätherische Oel der Iva ebenfalls durch Destillation des Krautes mit Wasserdampf. Auch er ist der Ansicht, dass sich eine bestimmte Formel nicht mit Gewissheit ableiten lasse, da die einzelnen Anteile der Fraktionierung beträchtliche Unterschiede in dem Kohlenstoffgehalt aufweisen und die Entwicklung der Pflanze einen bestimmenden Einfluss auf die Beschaffenheit des ätherischen Oeles haben dürfte. Das ätherische Oel sei als ein Gemenge zu betrachten, dessen Anteile verschiedene Siedepunkte besitzen.

Weitere Untersuchungen des Ivaöls werden in den Berichten von *Schimmel*[12]) aufgeführt. Hier wird der Nachweis von *Cineol,* eines als Valeraldehyd vermuteten *Aldehydes* und von *l-Campher* erbracht.

Hänsel[13]) erhielt aus den Verseifungslaugen des Oeles *Palmitinsäure.* Neben alkoholischen Bestandteilen wies auch er *Cineol* in reichlichen Mengen nach. Die Werte für das spezifische Gewicht, die optische Drehung, die Säurezahl, die Esterzahl vor und nach der Azetylierung stimmen bei *Schimmel* und *Hänsel* überein und werden von *Gildmeister-Hoffmann*[14]) bestätigt.

b) Der harzige Anteil und die Bitterstoffe der Iva.

von Planta-Reichenau[15]) hat unter der Leitung *Erlenmeyers* als erster die Iva analysiert. Das vor der Blüte gesammelte und getrocknete Kraut wurde gepulvert. Durch Wasserdampfdestillation erhielt er das ätherische Oel. Die im Destillierkolben gebildete wässerige Abkochung wurde vom Kräuterrückstand getrennt und zum Extrakt eingeengt. Der Krautrückstand wurde nach scharfem Auspressen, wobei der Preßsaft zum wässerigen Dekokt gegeben wurde, wieder getrocknet und mit Alkohol ausgezogen.

Der *alkoholische Auszug* wurde mit Bleiazetat gefällt und der Niederschlag abfiltriert. Das Filtrat wurde durch Schwefelwasserstoff entbleit, filtriert und vollständig eingedampft. Das so erhaltene Extrakt wurde mit Essigsäure behandelt, um die Bitterstoffe zu

---

[11]) **Bruns Wilh.,** Studien über die aromatischen Bestandteile und Bitterstoffe des Ivakrautes, Achillea moschata. Sitzungsberichte der Physikalisch-medizinischen Societät in Erlangen, Heft 22, 1890,

[12]) **Schimmel, Berichte,** Oktober 1894, April 1912, Oktober 1915.

[13]) **Hänsel H.,** Apotheker-Zeitung, 1900, Bd. XV, S. 32.
Chemisches Zentralblatt, 1907, Bd. II.
Jahresberichte der Pharmazie, 1907, Bd. XIII.

[14]) **Gildmeister-Hoffmann,** Die ätherischen Oele, 1931, Bd. III.

[15]) **von Planta-Reichenau,** a. a. O.

entfernen. Die zurückbleibende ölig-schmierige Masse wurde durch wiederholtes Lösen in Alkohol, Abdampfen und Behandeln mit Tierkohle gereinigt. Schliesslich blieb ein gelber, terpentinartiger und bitter schmeckender Rückstand, der sich nicht in Wasser löste und dessen Analyse die Formel $C_{21}H_{42}O_3$ lieferte. *Planta* nannte diesen Stoff *Ivain* und fasste ihn als ein Hydrat des Ivaols auf.

Das aus der *wässerigen Lösung* erhaltene Extrakt wurde mit Alkohol ausgezogen, wobei die bitter schmeckenden Anteile vollständig in den Alkohol übergingen. Die Lösung wurde bis zum Extrakt eingeengt. Dieses wurde vorsichtig mit Wasser versetzt. Nach anfänglicher Lösung schied sich bei einem Ueberschuss an Wasser ein von *Planta Moschatin* genannter Bitterstoff in Form rotbrauner Flocken ab. Das Filtrat wurde mit frisch gefälltem Bleioxyd behandelt, mit Schwefelwasserstoff entbleit, eingedampft und durch wiederholtes Lösen in absolutem Alkohol und in Wasser gereinigt. Beim Eindampfen der wässerigen Lösung wurde eine braunrote, spröde, sehr hygroskopische, amorphe Masse von bitterem Geschmack erhalten. *Planta* nannte diesen Bitterstoff *Achillein*. Aus der Analyse berechnete *Planta* die Formel $C_{20}H_{38}H_2O_{15}$. Mit Natronkalk erhitzt soll sich Ammoniak, beim längeren Kochen mit verdünnter Schwefelsäure Zucker, ein flüchtiges aromatisches Produkt und, wie es schien, Ammoniak neben einem dunkelroten, nicht mehr bitter schmeckenden und in Wasser unlöslichen Pulver von basischem Charakter gebildet haben. Nach *Planta* ist das Achillein ein Glyko-Alkaloid.

Das bereits erwähnte Moschatin wurde durch Lösen in Alkohol, Verdunstenlassen des Alkohols und darauffolgendes Kneten mit Wasser gereinigt, bis die Masse sich unter Wasser leicht pulvern liess. Es ist ebenfalls amorph, bitter, kaum löslich in Wasser. Die Analyse ergab die Formel $C_{21}H_{27}NO_7$.

Beim Eindampfen des alkoholischen Auszuges des aus der wässerigen Lösung erhaltenen Extraktes setzte sich *Stearinsäure* ab. Sie wurde nach mehrmaliger Reinigung mit Tierkohle und Umkristallisation aus Alkohol rein kristallin erhalten.

Plantas Resultate wurden schon bei der Besprechung im « N. Jahrbuch der Pharmacie, Bd. XXXIV, S. 300 » [16]) durch *Reinsch* kritisch betrachtet. Die drei neu aufgestellten Körper Ivain, Achillein und Moschatin werden für nichts anderes gehalten als für «drei verschiedenartige Gemische von Pflanzenleim, Gummi und Bitterstoff in wechselndem Verhältnis ».

Die nächste Gesamtuntersuchung der Iva stammt von *Bruns* [17]). Er destillierte zunächst das ätherische Oel ab und stellte sich an-

[16]) Jahresberichte der Pharmazie, 1871, S. 45.

[17]) **Bruns,** a. a. O.

schliessend aus dem Krautrückstande einen alkoholischen Auszug her. Dieser wurde durch Destillation möglichst weit vom Alkohol befreit. Der Rückstand wurde mit Sand zu einem dicken Brei vermischt und im Vakuum weiter eingedampft. Zuerst gingen alkoholische und wässerige Anteile über, dann folgten bei ca. 50 ° schwere, gelbe Oeltropfen und schliesslich eine braune Masse, welche im Kühlrohr erstarrte.

Das Destillat wurde mit Petroläther ausgeschüttelt, worin der flüchtige Oelkörper unlöslich war (Petrolätherauszug).

Das in der Retorte befindliche Ivaextrakt wurde zunächst mit salzsäurehaltigem Wasser in der Wärme ausgezogen, dann mit Wasser gewaschen, getrocknet und mit Aether extrahiert. Dieser ätherische Auszug wurde mit dem Petrolätherauszug des Destillates vereinigt. Der Rückstand wurde endlich wieder in Alkohol gelöst. So erhielt *Bruns* aus dem alkoholischen Extrakt der Iva einen wässerigen, einen ätherischen und einen alkoholischen Anteil.

Der *ätherische Auszug* wurde auf ein kleines Volumen gebracht und mit Tierkohle entfärbt. Nach dem Verdampfen des Aethers hinterblieb ein klares, braungelbes Weichharz von salbenartiger Konsistenz und balsamischem Geruch. Bei der Destillation mit Wasserdampf ging ein gelbes Oel über und zurück blieb eine nach dem völligen Trocknen fast geruchlose, braune Harzsäure, deren Elementaranalyse die Formel $C_{24}H_{48}O_{10}$ ergab. Das Weichharz liess sich mit Essigsäureanhydrid und Azetylchlorid azetylieren. *Bruns* ist der Ansicht, dass als aromatisches Prinzip der Iva dieses Weichharz, bestehend aus einer Harzsäure, gelöst in wenig ätherischem Oel, zu betrachten sei.

Die *wässerige* Lösung des alkoholischen Extraktes wurde mit basischem Bleiazetat gefällt, mit Schwefelwasserstoff entbleit und das Filtrat bei mässiger Wärme eingedampft. Der Rückstand wurde so oft durch Lösen in absolutem Alkohol, Wiederverdampfen und Lösen mit Wasser behandelt, bis er in diesen Lösungsmitteln klar löslich war. Diese Lösung wurde zum Extrakt eingedampft. Es wurde eine rotbraune, hygroskopische Masse von bitterem Geschmack erhalten, die bei 100 ° getrocknet wurde. Die Elementaranalyse ergab 44,25% C, 6,4% H und 49,35% O.

Die *alkoholische Lösung* wurde mit Bleioxyd geschüttelt, die Fällung abfiltriert, das Filtrat mit Schwefelwasserstoff entbleit und bei gelinder Temperatur eingedampft. Der Rückstand wurde mit kleinen Mengen Aether ausgewaschen, bis eine klare braune, geruchlose Masse von intensiv bitterem Geschmack zurückblieb, die in Wasser unlöslich war. Sie wurde bei 100 ° getrocknet. Die Elementaranalyse lieferte folgende Werte: 41,0 % C, 6,2 % H und 52,8 % O.

Aus diesen beiden Elementaranalysen schloss *Bruns,* im Gegensatz zu *Planta,* dass die beiden Bitterstoffe, wenn nicht identisch, so doch nicht wesentlich voneinander verschieden sein können. Von Alkaloidreagenzien wurden die Bitterstoffe nicht gefällt, Stickstoff konnte in ihnen nicht nachgewiesen werden. Beim Schmelzen mit überschüssigem Aetzkali bildete sich Oxalsäure, mit Phenylhydrazin resultierte eine bei 199° schmelzende Verbindung und bei der Oxydation mit roher Salpetersäure wurde Zuckersäure erhalten. Aus diesen Tatsachen schliesst *Bruns,* dass die in der Iva enthaltenen Bitterstoffe zu der Klasse der Kohlehydrate gehören oder diesen sehr nahe stehen.

Aus seiner Arbeit zieht *Bruns* noch den allgemeinen Schluss, dass die zu seiner Zeit üblichen Darstellungsmethoden der in Wasser löslichen Bitterstoffe, welche in so grosser Zahl in der Literatur beschrieben sind, kaum zu reinen Körpern führen und dass bei der leichten Veränderlichkeit des Bitterstoffes das Erwärmen die Ursache sei, wenn in einer Pflanze mehrere, verschiedene Bitterstoffe aufgefunden wurden.

Nach den Untersuchungen von *Bruns* wurde es um die Iva lange Zeit still. Erst im Jahre 1928 bemerkt *Schaller* [18]) in seiner Dissertation, dass es ihm trotz vielen und langwierigen Versuchen nicht gelungen sei, ein einheitliches Achillein aufzufinden. Dieser Verfasser tritt leider nicht näher auf seine Untersuchungen ein.

Aus den bisher veröffentlichten Arbeiten ist ersichtlich, dass von den mehr oder weniger gut definierten Inhaltsstoffen der Iva nur einige Bestandteile des ätherischen Oeles, die Palmitinsäure und die von *Planta* isolierte Stearinsäure bekannt sind. Alle übrigen zum Teil mit Namen und Formeln belegten Stoffe dürften Gemische oft heterogenster Art sein.

Meine Aufgabe bestand darin, die Droge erneut auf ihre Inhaltsbestandteile zu untersuchen, wobei von neueren Untersuchungsmethoden, vor allem von der *Chromatographie* [19]), Gebrauch gemacht werden sollte.

---

[18]) **Schaller H.,** Beiträge zur Konstitutionsaufklärung des Taxins. Diss. Zürich ETH., 1928.

[19]) **Valentin,** Chromatographische Adsorptionsanalyse in der Pharmacie. Pharm. Ztg., 1935, Nr. 36, S. 469, 1936, Nr. 74, S. 943, 1937, Nr. 82, S. 527/30.

Frank, Chromatographische Adsorptionsanalyse in der Pharmazie. Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharm. Ges. 1937, H. 275, S. 125/41 und 345/56.

Ernst P. und Weiner G., Chromatogramme und Ultrachromatogramme pharm. Drogen. Scientia pharm. 1937, H. 8, S. 45/51.

Zechmeister und Cholnoky, Chromatographische Adsorptionsmethode, Wien 1937.

Experimenteller Teil.

I. Vorversuche.

1. Extraktionsversuche.

Die von der Firma Siegfried in Zofingen bezogene Ganzdroge wurde nach der von *Weiss* [20]) aufgestellten Tabelle bestimmt. Sie setzte sich ausschliesslich aus der Art *Achillea moschata Wulf.* zusammen. Die aus ihr entfernten Verunreinigungen waren gering und bestanden aus Flechten und Gräsern. Die Extraktionen wurden im Soxhlet-Apparat ausgeführt, um die Inhaltsstoffe kalt aus der Droge herauszulösen und zu schonen. Die Droge wurde mit dem jeweiligen Extraktionsmittel bis zur Erschöpfung, das heisst bis dass die Flüssigkeit farblos durchlief, ausgezogen.

Vorerst handelte es sich darum, zu erfahren, welcher Zerkleinerungsgrad der Droge bei der Extraktion die vorteilhafteste Ausbeute lieferte. Daher wurden je 10 g geschnittene und gepulverte Droge (Siebgrösse IV) extrahiert. Als Extraktionsmittel wurden Benzol, Petroläther und Essigäther gewählt. Für jedes Extraktionsmittel wurde neues Drogenmaterial verwendet. Die Darstellung der Extrakte erfolgte durch Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum. Vor der Gewichtsermittlung wurden die Extrakte 24 Stunden über entwässertem Calciumchlorid getrocknet.

Tab. I.

10 g Droge	Extraktmenge nach Extraktion mit					
	Benzol		Petroläther		Essigäther	
	g	%	g	%	g	%
geschnitten	0,2935	2,94	0,1325	1,32	0,4072	4,07
gepulvert (Sieb IV) .	0,483	4,83	0,2308	2,31	0,682	6,82

Die gepulverte Droge lieferte in allen drei Fällen günstigere Extraktionsausbeuten. Für die weitere Darstellung der Extrakte wurde daher die gepulverte Droge verwendet. Alle drei Extrakte waren grün gefärbt. Sie fühlten sich etwas fettig an, schmeckten schwach bitter und hatten einen angenehm-aromatischen Geruch.

[20]) **Weiss,** a. a. O.

2. Chromatographische Versuche.

Zuerst galt es zu erfahren, welche Konzentration der zu chromatographierenden Lösung das günstigste Chromatogramm lieferte und welches Lösungsmittel oder Lösungsmittelgemisch sich am besten als Entwickler eignete, um die einzelnen Farbzonen deutlich voneinander zu trennen. Gleichzeitig konnten die Chromatogramme vielleicht schon eine vorläufige Orientierung über die bei den Extraktionsversuchen erhaltenen Auszüge geben. Deshalb wurden Lösungen verschiedener Konzentrationen des Petroläther-, Benzol- und Essigätherextraktes chromatographiert. Als Adsorptionsmittel wurde reine Tonerde verwendet, die in ein Glasrohr von 1 cm Durchmesser und von 12 cm Länge in kleinen Portionen und unter gleichmässigem Feststampfen trocken eingefüllt wurde. Die Lösungen wurden durch die Adsorptionssäule ohne Vakuum filtriert.

a) Petrolätherextrakt.

Aus dem Petrolätherextrakt wurden Lösungen zu 0,1%, 0,5%, 0,7% und 1% in Petroläther bereitet. Die Entwicklung zum fertigen Chromatogramm geschah mittels Petroläther, Alkohol und einer Mischung von Benzol-Benzin im Verhältnis 1 + 4.

Chromatogramm von 10 ccm der 0,1% Petrolätherlösung, entwickelt mit 5 ccm Alkohol:

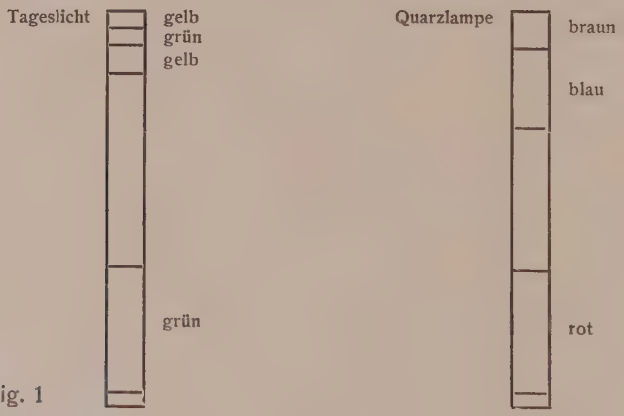

Fig. 1

Chromatogramm von 30 ccm der 0,5% Petrolätherlösung, entwickelt mit 60 ccm Petroläther:

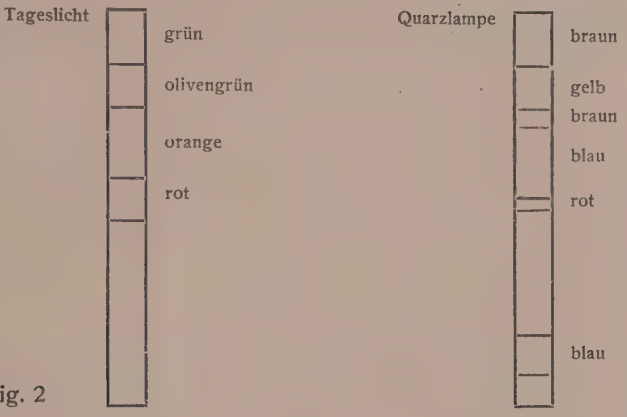

Fig. 2

Chromatogramm von 10 ccm der 0,7% Petrolätherlösung, entwickelt mit 5 ccm Benzol-Benzin 1 + 4:

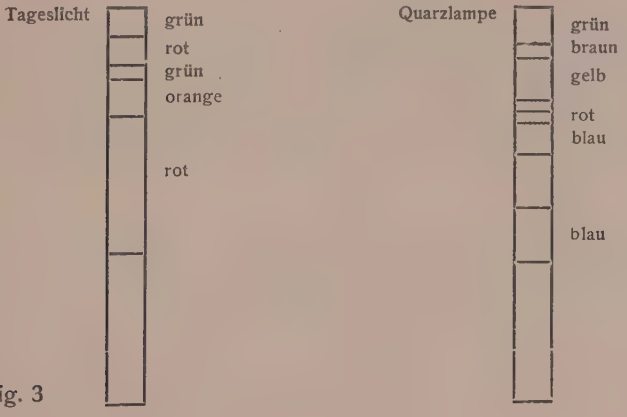

Fig. 3

Chromatogramm von 30 ccm der 1% Petrolätherlösung, entwickelt mit 60 ccm Petroläther:

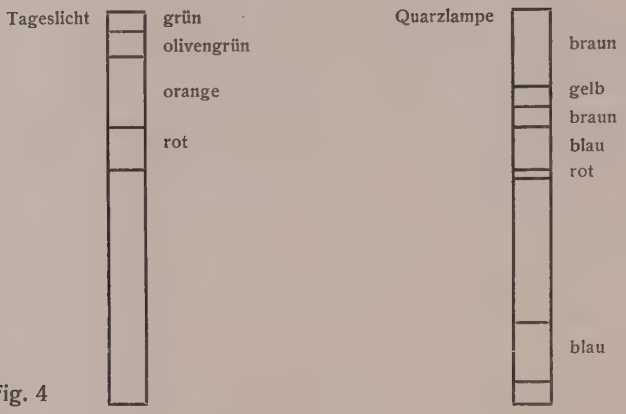

Fig. 4

Beim Vergleich dieser vier chromatographischen Bilder fallen die in jedem Chromatogramm erscheinenden und unter der Quarzlampe blau fluoreszierenden Zonen auf. Ferner zeigt sich, dass als Konzentration der zu chromatographierenden Lösung die 1prozentige Lösung ein günstiges Bild liefert. Als Entwickler kommt Alkohol nicht in Betracht, da die einzelnen Farbzonen zu stark entwickelt werden. Sowohl das Lösungsmittel wie das Elutionsgemisch Benzol-Benzin 1 + 4 trennen die einzelnen Farbzonen deutlich. Mit dem Gemisch geht es jedoch mit weniger Flüssigkeitsmengen und darum rascher, bis scharf voneinander getrennte Farbzonen hervortreten.

b) Benzolextrakt.

Auf Grund der Ergebnisse mit dem Petrolätherextrakt wurden 10 ccm einer 1prozentigen Benzollösung chromatographiert. Als Entwickler wurden 5 ccm einer Mischung von Benzol-Benzin-Alkohol 1 + 4 + 1 verwendet.

Fig. 5

Dieses Elutionsgemisch erwies sich bereits als zu stark. Schon 5 ccm genügten, um eine der unter der Quarzlampe blau fluoreszierenden Zonen herauszuentwickeln. Das Filtrat wurde gesammelt und vom Lösungsmittel durch Abdampfen befreit. Zurück blieb eine gelbbraune, aromatisch riechende Masse von schwach bitterem Geschmack. Sie löste sich in Chloroform. Mit konzentrierter Schwefelsäure unterschichtet, färbte sich die Schwefelsäureschicht stark rot.

c) Essigätherextrakt.

10 ccm einer 1prozentigen Essigätherlösung wurden chromatographiert.

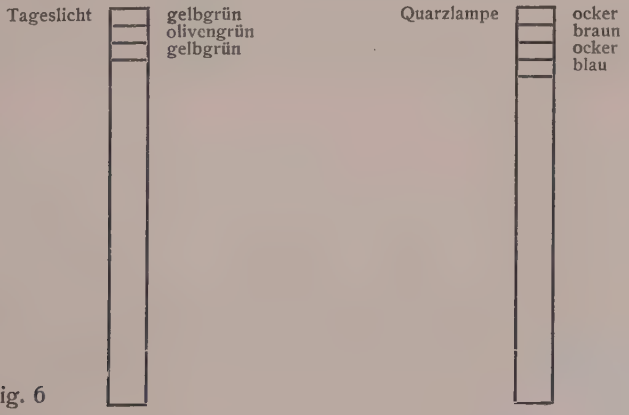

Fig. 6

Mit 30 ccm einer Mischung von Essigäther-absol. Alkohol 5 + 1 entwickelt, wurde folgendes Chromatogramm erhalten:

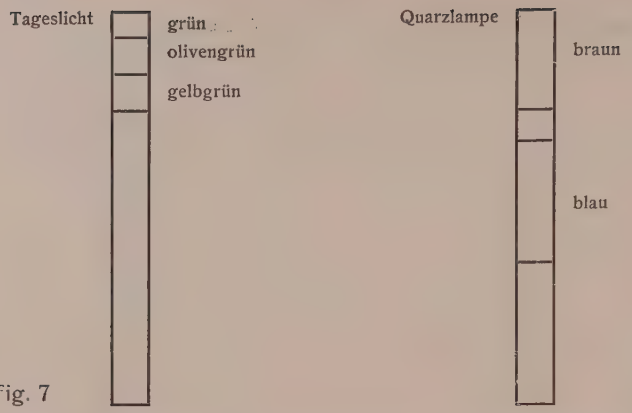

Fig. 7

Trotz dem Umstand, dass der Auszug mit Essigäther die grösste Extraktmenge lieferte (vgl. Tab. I), zeigte das Essigätherchromatogramm nur wenige Farbzonen, die sich auch nach dem Entwickeln nicht vermehren liessen.

Nach diesen chromatographischen Versuchen mit Lösungen, die mit Extrakten bereitet waren, welche aus einmaligem Extrahieren des Drogenmaterials stammten, wurden Versuche angestellt mit Extrakten, die durch aufeinanderfolgendes Ausziehen der Droge durch mehrere Lösungsmittel erhalten worden waren. 20 g gepulverte Droge wurden nacheinander im Soxhletapparat mit Petroläther, Aether, Chloroform und Methylalkohol extrahiert. Die jeweiligen Auszüge wurden im Vakuum zum Extrakt verarbeitet. Der Drogenrückstand wurde endlich zuerst mit 50prozentigem Alkohol und dann mit Wasser ausgekocht; aus diesen beiden Lösungen wurden die Extrakte durch Verdampfen der Lösungsmittel auf dem Wasserbade dargestellt.

Tab. II.

Extraktionsmittel	Extraktmenge aus 20,0 g Pulverdroge	
Petroläther	0,476 g	2,38 %
Äther	0,306 g	1,53 %
Chloroform	0,260 g	1,3 %
Methylalkohol	3,132 g	15,66 %
Alkohol 50 %	0,05 g	0,25 %
Wasser	0,08 g	0,4 %

Auch diese Extrakte wurden zu chromatographischen Versuchen benützt, um vielleicht schon jetzt etwas über die extrahierten Stoffe kennen zu lernen, besonders aber, um weitere Erfahrungen in der chromatographischen Technik zu sammeln. Als Adsorptionsmittel wurde weiterhin reines Aluminiumoxyd verwendet, das trocken in eine Adsorptionsröhre von 12 cm Länge und 1 cm Durchmesser festgestampft worden war.

a) Petrolätherextrakt.

Dieses dunkelgrüne, aromatisch riechende Extrakt schmeckte schwach bitter. Bei den ersten chromatographischen Versuchen wurden bereits Lösungen verschiedener Konzentrationen des Petrolätherextraktes untersucht. Zur Darstellung der jetzt zu chromatographierenden Lösung wurde das in der Pharmakopöe bei der Herstellung verschiedener Extrakte angegebene Verfahren der Eisdefäkation angewendet. Eine 0,5prozentige Petrolätherlösung wurde während 24 Stunden im Eisschrank stehen gelassen, von den ausgeschiedenen Ballaststoffen abfiltriert und auf die Hälfte des ursprünglichen Gewichtes eingeengt. Diese Lösung wurde abermals 24 Stunden defäkiert. 10 ccm der so erhaltenen defäkierten Lösung wurden chromatographiert. Das Entwickeln zum fertigen Bild erfolgte mit 5 ccm Aether.

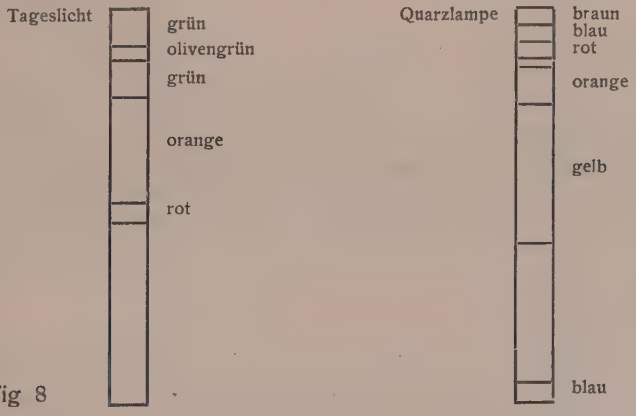

Fig 8

Verglichen mit dem ersten Chromatogramm (Fig. 4) fehlt nun in der bei Tageslicht betrachteten Säule eine grüne Farbzone. Unter der Quarzlampe betrachtet, hat dieses Chromatogramm eine gelbe und eine braune Zone weniger. Dafür treten unter der roten Farbzone, wo im ersten Chromatogramm eine violette Zone lag, eine orange und eine gelbe Zone neu hervor. Was jedoch in der durch Defäkation von den Ballaststoffen gereinigten Lösung gleich auf-

fallend in Erscheinung tritt, sind die zwei blau fluoreszierenden Zonen.

b) Aetherextrakt.

Auch dieses Extrakt war von dunkelgrüner Farbe und schmeckte schwach bitter. 10 ccm einer 0,5prozentigen ätherischen Lösung wurden chromatographiert und das Chromatogramm mit 5 ccm einer Mischung von Aether-Methylalkohol 4 + 1 entwickelt:

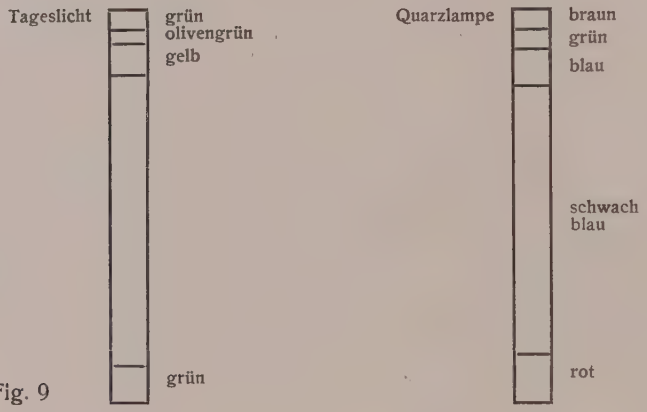

Fig. 9

Die im ultravioletten Licht blau fluoreszierende Zone wurde mit Methylalkohol eluiert. Nach gründlicher Filtration des Eluates wurde das Lösungsmittel verdunsten gelassen. Es hinterblieb eine gelbbraune Schmiere von aromatischem Geruch und bitterem Geschmack, in der kristallinische Nadeln und Nadelbüschel eingeschlossen waren. Der grüne Chromatogrammdurchlauf fluoreszierte im ultravioletten Licht rot.

c) Chloroformextrakt.

Das nach der Vorextraktion der Droge mit Petroläther und Aether durch Chloroform gewonnene Extrakt war von dunkelgrüner Farbe, roch aromatisch und schmeckte schwach bitter. 10 ccm einer 5prozentigen Chloroformlösung dieses Extraktes wurden chromatographiert und das Chromatogramm mit 30 ccm einer Mischung von Chloroform-absolutem Alkohol 99 + 1 entwickelt.

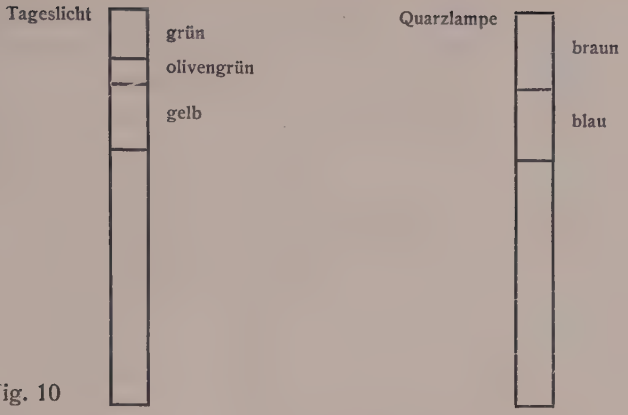

Fig. 10

Der Durchlauf war im Tageslicht grün gefärbt und fluoreszierte im ultravioletten Licht rot. Die unter der Quarzlampe blau gefärbte Zone wurde mit Methylalkohol eluiert. Das Eluat fluoreszierte bei Tageslicht grün opaleszierend, im ultravioletten Licht blau. Nach dem Verdunstenlassen des Lösungsmittels wurde eine braune, harzige Masse erhalten, die feine Nädelchen eingeschlossen enthielt und bitter schmeckte.

d) Methylalkoholextrakt.

Die vierte Extraktion der Droge, die Extraktion mit Methylalkohol, ergab quantitativ die grösste Ausbeute (vgl. S. 18). Das Extrakt war noch immer grün gefärbt, von lackartiger Konsistenz und schmeckte stark bitter. Auch hier wurden 10 ccm einer 0,5prozentigen Methylalkohollösung des Extraktes chromatographiert und das Chromatogramm mit 30 ccm Methylalkohol entwickelt.

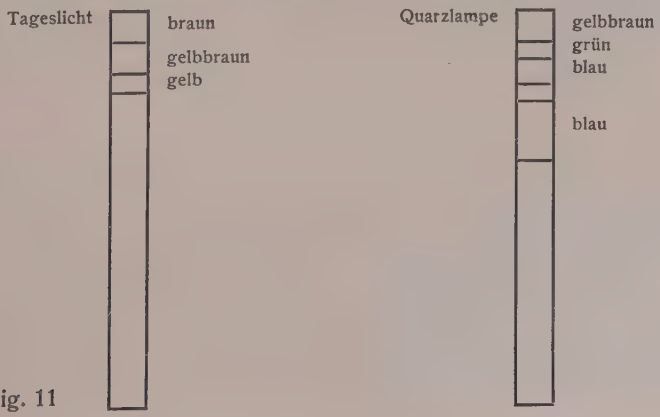

Fig. 11

Der Durchlauf war farblos und zeigte auch im ultravioletten Licht keine besondere Fluoreszenz. Wiederum erschienen unter der Quarzlampe zwei blaue Farbzonen.

e) Extrakt aus 50prozentigem Alkohol.

Dieses Extrakt war von grünbrauner Farbe. Der Geschmack war nicht mehr bitter, dagegen stark adstringierend. Das Extrakt gab an die üblichen organischen Lösungsmittel nichts ab, löste sich jedoch leicht in Wasser und verdünntem Alkohol. 10 ccm einer 0,5prozentigen Lösung dieses Extraktes in 50prozentigem Spiritus wurden chromatographiert. Das Chromatogramm wurde mit 10 ccm des Lösungsmittels entwickelt.

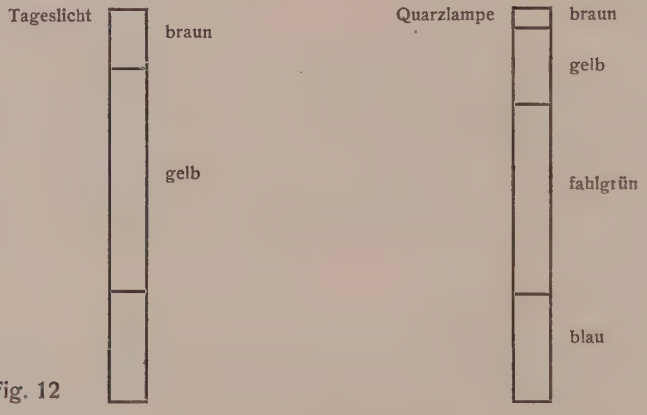

Fig. 12

Die unter der Quarzlampe gelb gefärbte Zone wurde mit Wasser eluiert. Dieses Eluat gab mit Eisenchlorid eine grüne Färbung. Der Durchlauf, der bei Tageslicht gelb gefärbt war und im ultravioletten Licht blau fluoreszierte, hinterliess nach dem Eindunsten einen nicht bitter schmeckenden gelbbraunen Rückstand mit kristallinischen Einschlüssen.

f) Wasserextrakt.

Dieses aus braunen Brocken bestehende Extrakt schmeckte süsslich zusammenziehend. Es löste sich nur in Wasser. 10 ccm einer 0,5prozentigen wässerigen Lösung wurden chromatographiert. Die schleimige Beschaffenheit der Lösung hinderte ein günstiges Durchfliessen selbst nach Anschluss der Adsorptionsröhre an die Wasserstrahlpumpe. Das unentwickelte Chromatogramm zeigte sowohl bei Tageslicht als auch unter der Quarzlampe eine einzige braune Zone im obersten Teil der Adsorptionssäule.

Die Vorversuche ergeben zusammenfassend:

1. Die grobgepulverte Droge liefert beim Ausziehen mit einem Lösungsmittel die grössere Extraktmenge als die Ganzdroge.

2. Zum Chromatographieren eignen sich Lösungen bis zu einer Konzentration von 1% besser als stärker konzentrierte Lösungen.

3. Das Entwickeln des Chromatogramms geschieht am vorteilhaftesten mit dem jeweiligen Lösungsmittel, dem in geringer Menge Methyl- oder Aethylalkohol zugesetzt wird.

4. Durch die aufeinanderfolgende Behandlung mit Petroläther, Aether, Chloroform, Methylalkohol, 50prozentigem Alkohol und Wasser lässt sich eine gründliche Erschöpfung der Droge erreichen. Dabei ist besonders das Extrakt aus dem Methylalkoholauszug auffallend, da es mengenmässig den grössten Anteil darstellt und noch durch seinen bitteren Geschmack hervorsticht.

Trotzdem beim einmaligen Ausziehen der Droge Essigäther die grösste Extraktmenge ergab, scheint sich Essigäther seiner Eigenschaft zu Hydrolysieren wegen nicht besonders als Lösungsmittel zu eignen (vgl. auch Chromatogramm, Fig. 7). Auch *Rosenthaler* [21]) gibt den Essigäther nicht als Lösungsmittel bei der aufeinanderfolgenden Behandlung des Untersuchungsmaterials an.

5. Die Chromatogramme aller Extrakte, mit Ausnahme des Wasserextraktes, zeigen als auffallendste Farbstoffzonen die zwei unter der Quarzlampe blau bluoreszierenden Zonen.

Für das weitere Vorgehen schien mir auf Grund der in den Vorversuchen gemachten Erfahrungen das aufeinanderfolgende Ausziehen der grobgepulverten Droge mit Aether, Chloroform, Methylalkohol und 10prozentigem Alkohol zu einem genügenden Aufschluss über die in der Droge vorhandenen Körper zu führen. Das Einschalten einer Petrolätherextraktion erschien mir nicht nötig, da Aether und Chloroform die ähnlichen Körper in Lösung bringen. Die gleiche Ueberlegung liess mich von einer Benzolextraktion absehen.

II. Hauptuntersuchung.

3 kg grobgepulverte Droge wurden in einem Extraktionsapparat System Soxhlet, nacheinander mit Aether, Chloroform und Methylalkohol solange extrahiert, bis das jeweilige Lösungsmittel farblos ablief. Die Extraktflüssigkeiten wurden im Vakuum von den Lösungsmitteln befreit und zu Trockenextrakten verarbeitet. Beim

[21]) **Rosenthaler L.,** Grundzüge der chemischen Pflanzenuntersuchung, Berlin 1928.

Wechseln des Lösungsmittels wurde die Droge aus dem Extraktionsapparat herausgenommen und das alte Lösungsmittel durch Verdunstenlassen entfernt. Nach diesen Soxhletextraktionen wurde das Drogenpulver mit 10prozentigem Alkohol perkoliert. Auch dieses Extrakt wurde im Vakuum zur Trockene verdampft. Es wurden so erhalten: ein Aetherextrakt, ein Chloroformextrakt, ein Methylalkoholextrakt und ein Extrakt aus dem Auszug mit 10prozentigem Alkohol. Jede dieser Fraktionen wurde für sich aufgearbeitet.

1. Aetherextrakt.

Dieses dunkelgrüne, fettige Extrakt wog 93 g. Die Ausbeute betrug also 3,1% oder doppelt soviel als das ätherische Extrakt, das aus der mit Petroläther vorextrahierten Droge erhalten worden war. Es schmeckte leicht bitter und war von angenehm-aromatischem Geruch.

3 g Aetherextrakt wurden warm mit 1prozentiger Salzsäure ausgezogen. Das Filtrat gab weder mit Jodjodkali noch mit Kaliumquecksilberjodid einen Niederschlag, so dass auf Abwesenheit von Alkaloiden geschlossen werden kann.

In einer Vorprobe zeigte sich, dass von 5 g Extrakt sich ein Teil in ca. 50 ccm kaltem Petroläther löste. Diese Petrolätherlösung wurde im Vakuum zum Extrakt eingeengt. Dieses Extrakt löste sich bis auf einen kleinen zähen, dunkelgrünen Rest in 50 ccm heissem Alkohol. Beim Erkalten der alkoholischen Lösung fiel ein gelbgrüner kristallinischer Körper aus. Dieser wurde abermals in 50 ccm heissem Alkohol gelöst und die Lösung mit etwas Kohle am Rückflusskühler während einer halben Stunde auf dem Wasserbade erhitzt. Die heiss abfiltrierte Lösung war noch gelb gefärbt. Aus ihr schieden beim Kaltwerden weisse kristallinische Nadeln aus. Die Ausbeute war gering, doch versprach dieses Vorgehen bei mehr Ausgangsextrakt ein gutes Resultat.

Derjenige Teil des Aetherextraktes, der sich nicht in Petroläther gelöst hatte, wurde von heissem Alkohol ebenfalls bis auf einen kleinen Rest gelöst. Auch aus dieser heissen alkoholischen Lösung schieden sich beim Erkalten Nadeln aus.

Gestützt auf diese Vorproben wurden 80 g Aetherextrakt kalt mit kleinen Portionen Petroläther durchgearbeitet, bis der im Anfang grün gefärbte Petroläther farblos ablief. Auf diese Weise wurden 1400 ccm Petrolätherlösung und ein in Petroläther unlöslicher Aetherextraktrückstand von ca. 30 g erhalten.

a) Petrolätherlöslicher Anteil.

Die Petrolätherlösung wurde im Vakuum zum Extrakt eingeengt. Dieses löste sich bis auf ca. 10 g in einem Liter heissen

Alkohols. Die beim Erkalten der grünen alkoholischen Lösung eingetretene voluminöse Ausscheidung war ebenfalls grün gefärbt. Da sie auch nach wiederholtem Umkristallisieren aus Alkohol immer stark gelbgrün gefärbt blieb, wurde sie abermals in heissem Alkohol aufgenommen und mit Tierkohle während einer Stunde am Rückfluss erhitzt. Die noch etwas gelb gefärbte Lösung wurde heiss filtriert. Beim Erkalten schieden sich gelblich-weisse Kristallnadeln aus. Sie wurden abgenutscht, über Schwefelsäure getrocknet und ihr Schmelzpunkt bestimmt. Dieser lag unscharf bei 46 °—48 °. Zur weiteren Reinigung wurden die Kristalle in Chloroform gelöst und aus dieser Lösung durch vorsichtiges Zusetzen von absolutem Alkohol wieder gefällt. Der Schmelzpunkt betrug jetzt 55 °—56 °. Nach zweimaliger Umfällung aus der Chloroformlösung mit absolutem Alkohol blieb der Schmelzpunkt konstant auf 56 °—57 °.

Aus den drei Mutterlaugen der durch Alkohol aus der Chloroformlösung gefällten Kristalle wurden ebenfalls Kristallnadeln erhalten, die den gleichen Schmelzpunkt wie die zuerst erhaltenen zeigten.

Aus der Mutterlauge der ersten Kristallisation, Schmelzpunkt 46 °—48 °, trat nach dem Einengen der Lösung beim Erkalten abermals eine Ausscheidung von schuppenartigem Aussehen und einem unscharfen Schmelzpunkt von 45 ° ein. Die Ausbeute war jedoch nur 0,03 g, dass von einer weiteren Untersuchung abgesehen werden musste. Auch aus der nächsten Mutterlauge wurde nach dem Einengen ein amorpher Niederschlag erhalten, der bereits bei 32 ° schmolz und seiner geringen Menge wegen nicht weiter untersucht werden konnte.

Die Ausbeute der bei 56 °—57 ° schmelzenden Kristalle betrug 0,6 g. Die Vermutung lag nahe, dass es sich bei diesem Körper um die für die Droge bereits nachgewiesene Palmitinsäure handeln dürfte. Deshalb wurde mit Palmitinsäure des Handels vom Schmelzpunkt 59 ° der Mischschmelzpunkt genommen. Er betrug 57 °—58 °. Zwecks weiterer Identifizierung wurde noch das Molekulargewicht bestimmt. Die Fettsäure wurde in neutralem Weingeist gelöst und mit Phenolphtalein als Indikator mit 0,5n-weingeistiger Kalilauge titriert.

0,2646 g Substanz verbrauchten 2,05 ccm 0,5n-KOH (Titer = 0,96603). Daraus ergibt sich ein Molekulargewicht von 267,2. Palmitinsäure besitzt ein Molekulargewicht von 256,26. Unser Molekulargewicht lag zwischen diesem Molekulargewicht und demjenigen der Stearinsäure, das 284,29 beträgt.

Sollte unser Körper ein Gemisch aus Palmitinsäure und Stearinsäure sein, so dürfen die Mischschmelzpunkte keine Depressionen erleiden. Die zum Vergleich herangezogene Stearinsäure hatte einen Schmelzpunkt von 66 °. Der Mischschmelzpunkt lag bei 64 °.

Mischschmelzpunkt mit Palmitinsäure = 57 °—58 °.
Mischschmelzpunkt mit Stearinsäure = 64 °.

Der Schmelzpunkt stieg in beiden Fällen. Aus den Bestimmungen von Molekulargewicht und Schmelzpunkten durfte man mit grösster Wahrscheinlichkeit schliessen, dass dieser Stoff als ein Gemisch von *Palmitin- und Stearinsäure* angesehen werden kann.

Die von den Fettsäuren abfiltrierte alkoholische Lösung des petrolätherlöslichen Aetherextraktanteils wurde im Vakuum zum Trockenextrakt verarbeitet. Eine Vorprobe hatte ergeben, dass Wasser aus dem Extrakt einen stark bitteren Körper herauslöste. Da es meist zweckmässiger ist, Stoffe aus Lösungen durch Ausschütteln herauszubekommen und die Einwirkung des Lösungsmittels zur Erschöpfung der herauszulösenden Substanzen zudem stärker ist, wurde das Extrakt in Petroläther aufgenommen. Diese Lösung wurde solange in kleinen Portionen mit Wasser ausgeschüttelt, bis der wässerige Anteil nicht mehr bitter schmeckte. Auf diese Weise wurden etwas mehr als 500 ccm einer schwach gelben, äusserst bitter schmeckenden Flüssigkeit erhalten. Im ultravioletten Licht betrachtet fluoreszierte diese blau. Die Lösung hatte eine saure Reaktion; die Prüfung mit Eisenchlorid auf Phenole fiel negativ aus. Nach dem Abdestillieren des Wassers im Vakuum bei 50 ° hinterblieb ein klarer, braun-gelber, harzähnlicher Körper von salbenartiger Konsistenz und balsamischem Geruch, der äusserst bitter schmeckte. Nachdem die Masse mehrere Tage im Vakuumexsikkator belassen worden war, hatten sich darin vereinzelte Kristallplättchen gebildet, die jedoch bereits während des Betrachtens unter dem Polarisationsmikroskop in die Einschlussmasse zerflossen. Dieser Rückstand wurde nun der Reihe nach mit absolutem Alkohol, Alkohol von 70%, 50%, 25%, Chloroform, Aether, Essigäther und Azeton behandelt, um eine Trennung der vorhandenen Körper zu erzielen. Da jedoch diese Lösungsmittel als solche wie auch als Mischungen keine kristallinen Ausscheidungen herbeiführten, wurden in einer Vorprobe 10 ccm einer 1prozentigen Lösung der harzähnlichen Masse in Essigäther chromatographiert. Das Chromatogramm zeigte unter der Quarzlampe zwei blaue Farbzonen, die von einer leeren, das heisst violett gefärbten Zone, unterbrochen waren. Nun wurde der gesamte Rückstand, der 1,0 g wog, in 100 ccm Essigäther gelöst. Diese Lösung wurde durch eine Säule von 2,5 cm Durchmesser und 20,5 cm Höhe, die mit reinem Aluminiumoxyd beschickt war, chromatographiert. Die Entwicklung des Bildes erfolgte mit 100 ccm einer Mischung von Essigäther-absolutem Alkohol 99 + 1.

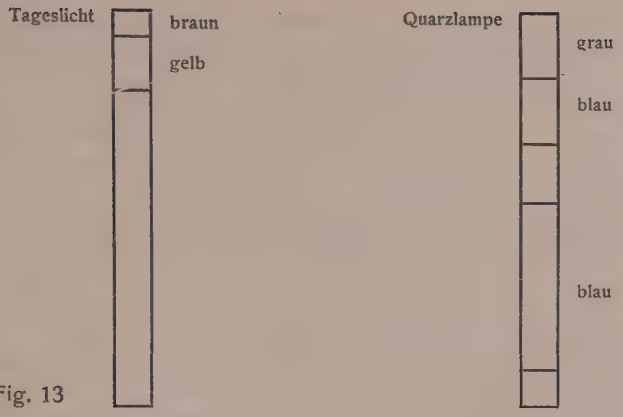

Fig. 13

Der gelbe Durchlauf wurde im Vakuum vollständig vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand bestand aus einer gelben, stark bitter schmeckenden Masse im Gewicht von 0,3 g. Er wurde als « Bitterstoff» auf die Seite gelegt (vgl. S. 49).

Jede der beiden blauen Farbzonen des Chromatogramms wurde getrennt weiter untersucht. Sie wurden mit 50prozentigem Weingeist eluiert, bis das letzte Eluat unter der Quarzlampe nicht mehr blau fluoreszierte. Um die Eluate sicher von den mitgeschwemmten feinsten Aluminiumoxydpartikeln zu befreien, wurden sie stufenweise im Vakuum eingeengt und jeweils durch Doppelfilter filtriert. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels blieben aus den beiden Farbzonen gelb-braune, schwach bitter schmeckende Schmieren zurück, in denen gelbliche Kristallnadeln und Rosetten eingebettet lagen. Diese Rückstände waren quantitativ so minim, dass von einer weiteren Untersuchung abgesehen werden musste.

Die *Petroläther*schicht der Ausschüttelung (siehe S. 26) wurde im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Infolge des grossen Chlorophyllgehaltes war es nicht möglich, aus dem dunkelgrünen, schmierigen Rückstand mit Hilfe eines geeigneten Lösungsmittels kristalline Abscheidungen zu erhalten. Da die Vermutung nahe lag, dass dieser Rückstand im wesentlichen aus Fett, ätherischem Oel und Chlorophyll bestand, wurde die eine Hälfte der Wasserdampfdestillation unterworfen. Das Destillat, mit Kochsalz gesättigt, wurde mit Aether ausgeschüttelt. Nach dem Trocknen der ätherischen Lösung wurde der Aether abdestilliert. Es hinterblieb nicht ganz 1 ccm eines blaugrünen ätherischen Oeles, das als bereits beschriebenes Ivaöl nicht weiter untersucht wurde. Die andere Hälfte des Rückstandes wurde in 300 ccm Azeton gelöst. 100 ccm dieser Lösung wurden chromatographiert und das Chromatogramm mit

100 ccm Azeton entwickelt. Die Säule zeigte bei Tageslicht fünf verschiedene Farbzonen, die jedoch nicht vollständig scharf voneinander getrennt waren. Man unterschied eine oberste, olivengrüne Farbzone, gefolgt von je einer grünen, hellgrünen, grünen, hellgrünen Farbzone. Im ultravioletten Licht erschienen diese gelb, braun, hellrot, rot, rosa. Dieses Chromatogramm zeigte weitgehende Uebereinstimmung mit demjenigen, das von *R. Frank* [22]) für Chlorophyll beschrieben wurde. Der Durchlauf des Chromatogramms war, sowohl bei Tageslicht als auch im ultravioletten Licht betrachtet, gelb. Nach dem Verjagen des Lösungsmittels wurde ein gelber, stark bitter schmeckender Rückstand erhalten, der 0,2 g betrug und als «Bitterstoff» beiseitegelegt wurde (vgl. S. 49).

Aus diesen Ergebnissen geht hervor, dass nicht aller « Bitterstoff » in Wasser übergegangen ist. Dies würde sich mit den Angaben *Bruns* decken, der je einen «Bitterstoff» in der wässerigen und in der alkoholischen Lösung des ursprünglich aus der Pflanze erhaltenen alkoholischen Auszuges gefunden hat, wobei sich der zuletzt genannte « Bitterstoff » in Wasser nicht löste.

Die Chromatogramme zeigen auch, dass die blaue Fluoreszenz der « wässerigen Bitterstofflösung » im ultravioletten Licht für den « Bitterstoff » nicht charakteristisch ist.

b) Petrolätherunlöslicher Anteil. (Vgl. S. 24).

Der petrolätherunlösliche Anteil des Aetherextraktes wurde in heissem Alkohol gelöst. Beim Erkalten der Lösung schied sich eine gelbgrüne, körnige Masse aus. Sie wurde in heissem Alkohol gelöst und mit Tierkohle am Rückfluss erhitzt. Nach einer Stunde wurde die noch heisse Lösung durch einen Heisswasserfilter filtriert. Nach kurzem Stehen hatten sich aus der nunmehr schwach gelb gefärbten Lösung schuppenartige Kristalle ausgeschieden, die nach fünfmaliger Umkristallisation aus Alkohol als rein weisse Kristallnadeln erhalten wurden. Die Ausbeute betrug nur 0,15 g. Ihr Schmelzpunkt lag konstant bei 69 °.

Die schwach gelb gefärbte alkoholische Lösung wurde der Vakuumdestillation unterworfen, um die Hälfte des Alkohols abzudestillieren. Nach dem Stehenlassen der konzentrierten Lösung im Eisschrank trat wiederum eine kristallinische Abscheidung ein, die abzentrifugiert wurde. Diese war sehr gering. Nach dreimaliger Umkristallisation aus Alkohol wurden 0,05 g rein weisse Kristallnadeln erhalten vom konstanten Schmelzpunkt 62 °.

Eine dritte Kristallisation wurde erhalten, indem die Mutterlauge der zweiten Fraktion mit wenig Wasser versetzt wurde, so dass eine Trübung entstand. Dann wurde erwärmt, bis klare Lösung ein-

[22]) **Frank R.,** a. a. O., S. 1225/41.

trat. Diese wurde in den Eisschrank zum Auskristallisieren gestellt. Wiederum trat eine Ausscheidung ein, die abzentrifugiert wurde. Diesmal jedoch war sie von amorpher Struktur und in so geringer Menge, dass nur ein Mikroschmelzpunkt bestimmt werden konnte. Dieser lag unscharf bei 31 °.

Die Mutterlauge dieser dritten Fraktion wurde ebenfalls noch weiter mit Wasser bis zur Trübung verdünnt, dann bis zur klaren Lösung erwärmt und zur Auskristallisation aufs Eis gestellt. Diese auch durch Abzentrifugieren erhaltene amorphe Fraktion schmolz bei 29 °. Der geringen Menge wegen konnte sie nicht weiter untersucht werden.

Die erste bei 69 ° schmelzende Fraktion zeigte mit Stearinsäure vom Schmelzpunkt 66 ° einen Mischschmelzpunkt von 67 °, mit Palmitinsäure vom Schmelzpunkt 59 ° einen solchen von 61 °. Dieses Verhalten liess den Schluss zu, dass dieser Stoff ziemlich reine *Stearinsäure* sein musste.

Die zweite Fraktion vom Schmelzpunkt 62 ° ergab mit Stearinsäure einen Mischschmelzpunkt von 63 ° und mit Palmitinsäure einen solchen von 62 °. Die erhebliche Schmelzpunktdepression mit Stearinsäure und der gleich bleibende Schmelzpunkt mit Palmitinsäure charakterisierte diese Kristallisation als *Palmitinsäure.*

Die von den Fettsäuren und den bei 31 ° und 29 ° schmelzenden Ausscheidungen befreite alkoholische Lösung des petrolätherunlöslichen Teiles des Aetherextraktes war von braungrüner Farbe und schmeckte bitter. Ein Chromatogramm von 10 ccm dieser Lösung zeigte im ultravioletten Licht eine Adsorptionssäule, die eine obere braune Farbzone aufwies, gefolgt von einer braunroten und blauen Zone. Diese blaue Schicht wurde mit Weingeist eluiert; das Eluat wurde gründlich filtriert und alsdann verdunsten gelassen. Der gelbbraune, bitter schmeckende Rückstand wurde im Vakuumexsikkator getrocknet, wobei in der Masse blumenstraussförmige Gebilde auskristallisierten. Diese waren stark hygroskopisch und zerflossen während dem Betrachten durch das Polarisationsmikroskop.

In einer weiteren Vorprobe wurde aus der alkoholischen Lösung nach Verdunstenlassen des Alkohols ein dunkelgrüner, bitter schmeckender Rückstand erhalten. Er löste sich spielend in Chloroform; in Benzin, Aether und Essigäther ging jedoch nur ein geringer, diese Lösungsmittel schwach grün färbender Teil in Lösung. Mit heissem Wasser konnte der bitter schmeckende Anteil des Extraktes herausgelöst werden.

Auf Grund dieser Vorproben wurde die alkoholische Lösung des petrolätherunlöslichen Teils des Aetherextraktes im Vakuum abdestilliert. Das zurückbleibende braungrüne, bitter schmeckende Extrakt wurde solange mit heissem Wasser behandelt, bis eine

Probe des wässerigen Auszuges nicht mehr bitter schmeckte. Die so erhaltene gelbe wässerige Bitterstofflösung zeigte unter der Quarzlampe betrachtet eine blaue Fluoreszenz. Die Lösung wurde im Vakuum eingeengt. Ein lackartiger gelber Rückstand blieb zurück. Er löste sich bis auf einen geringen braunen Rest in Essigäther. Dieser Rückstand schmeckte nicht bitter, war in Aether, Chloroform, Petroläther und Wasser unlöslich, löste sich aber leicht in Methylalkohol und Weingeist. Er wurde nicht weiter untersucht.

Die Essigätherlösung des « Bitterstoffes » wurde im Vakuum eingedampft. Nachdem Kristallisationsversuche aus absolutem Alkohol, Aether, Chloroform und Benzol misslangen, wurden in Anlehnung an die Untersuchungen des petrolätherlöslichen « Bitterstoffes » (vgl. S. 26) 120 ccm einer 1prozentigen Essigätherlösung des gelben Rückstandes chromatographiert. Das mit 100 ccm einer Mischung Essigäther-Alkohol 99 + 1 entwickelte Chromatogramm zeigte im Tageslicht nur eine obere gelbe Zone. Unter der Quarzlampe betrachtet, traten die zwei blauen Farbzonen auf, die bereits beim petrolätherlöslichen Anteil angetroffen wurden (vgl. Fig. 13). Der Chromatogrammdurchlauf war sowohl im Tageslicht als auch unter der Quarzlampe gelb. Vom Lösungsmittel befreit, hinterblieb ein gelbbrauner, harziger und bitter schmeckender Rückstand, der als « Bitterstoff» beiseitegelegt wurde (vgl. S. 49).

Die im ultravioletten Licht blau fluoreszierenden Farbzonen wurden mit 50prozentigem Alkohol eluiert. Die Eluate wurden hierauf gemeinsam weiteruntersucht, weil anzunehmen war, dass derjenige Stoff, der die blaue Fluoreszenz bewirkte, in beiden Farbstoffzonen der nämliche sei. Diese Annahme schien deshalb gerechtfertigt, weil beim petrolätherlöslichen Anteil des Aetherextraktes genau die gleichen Erfahrungen gemacht worden waren. Dort musste der geringen Ausbeute wegen eine weitere Untersuchung unterbleiben (vgl. S. 27). Nach dem Verjagen des Elutionsmittels im Vakuum wurde der noch bitter schmeckende gelbbraune Rückstand in 200 ccm Benzol gelöst, die ca. 1prozentige Benzollösung wurde chromatographiert, um eine Zerlegung des Gemisches zu versuchen. Dies gelang insofern, als im Chromatogrammdurchlauf die bitter schmeckenden Anteile enthalten waren. Der gelbe Durchlauf wurde im Vakuum zur Trockne gebracht. Der geringe gelbbraune Rückstand wurde zum « Bitterstoff » gegeben und dort weiter untersucht (vgl. S. 49).

Die im Chromatogramm auftretenden und unter der Quarzlampe blau fluoreszierenden Zonen wurden wie beim ersten Chromatogramm mit 50prozentigem Alkohol eluiert. Die Eluate schmeckten nicht mehr bitter. Sie wurden filtriert und im Vakuum eingeengt. Die vereinigten gelbbraunen und schmierigen Rückstände enthielten

kleine Kristallnadeln und Rosetten eingeschlossen. Essigäther und Aether lösten die Schmiere nicht, dagegen ging sie leicht in warmem Alkohol in Lösung. Die alkoholische Lösung wurde vorsichtig mit Aether versetzt, wobei eine braune amorphe, nicht bitter schmekkende Ausscheidung erfolgte. Das Filtrat hinterliess nach dem Verdunstenlassen des Lösungsmittels federförmige Kristalle. Leider waren diese abermals in der gelbbraunen Schmiere eingeschlossen. Sie wurden in einer Mischung Alkohol-Azeton 1 + 9 aufgenommen. Die Lösung fluoreszierte im ultravioletten Licht blau. Ein Versuch, die Substanz in dieser Lösung mit Tierkohle zu entfärben, führte zu keinem besseren Resultat. Die abfiltrierte Lösung fluoreszierte im ultravioletten Licht nicht mehr blau. Sie hinterliess nach dem Verdunsten des Lösungsmittels eine farblose Schmiere. Der Körper, der die Fluoreszenz bewirkt hatte, war durch die Kohle absorbiert worden. Um ihn wieder zu erhalten, wurde die Kohle in kleinen Portionen mit der Mischung Alkohol-Azeton 1 + 9 ausgekocht, bis diese unter der Quarzlampe nicht mehr blau fluoreszierte. Die Auskochung wurde filtriert und im Vakuum eingeengt. Der gelbbraune Rückstand war von harziger Konsistenz. Auch nach monatelangem Stehenlassen im Vakuumexsikkator war keine Kristallisation eingetreten. Waren aus den Eluaten der Farbstoffzonen im chromatographischen Versuch noch federförmige Kristalle in einer harzigen Einschlussmasse erhalten worden, so resultierte nach der Behandlung mit Kohle überhaupt nur eine braungelbe Schmiere. Der Versuch, auf diesem Wege den Farbstoff zu isolieren, endigte ohne Erfolg.

Das Ergebnis der Untersuchungen des petrolätherunlöslichen Anteiles des Aetherextraktes ist die Isolierung von *Palmitin-* und *Stearinsäure*. Die als « Bitterstoff » bezeichnete Komponente wurde nach der vorläufigen durch Chromatographie erfolgten Reinigung zur weiteren Untersuchung beiseite gelegt (vgl. S. 49).

2. Chloroformextrakt.

Das Chloroformextrakt wurde, nach vorhergehender Erschöpfung der Droge mit Aether, in einer Ausbeute von 76 g erhalten, was einem Gehalt an chloroformlöslichen Inhaltsstoffen von 2,5% entspricht. Es bestand aus einer dunkelgrünen, aromatisch riechenden und bitter schmeckenden Masse. Das Extrakt war in Wasser unlöslich. Kalter und warmer Alkohol wurde nur schwach gelb gefärbt, was eine geringe Löslichkeit des Extraktes in diesem Lösungsmittel verriet. Gleich verhielt sich die Löslichkeit in Methylalkohol. Aether, Petroläther, Benzol und Benzin lösten nur geringe Anteile des Extraktes, ohne kristalline Rückstände zu hinterlassen. In Azeton

löste sich das Extrakt in der Kälte grösstenteils, in der Wärme vollständig. In Chloroform löste es sich ganz leicht.

1,0 g Extrakt wurde in Chloroform gelöst und mit 1prozentiger Salzsäure ausgeschüttelt. Die saure Ausschüttelung wurde mit Jodjodkali und Kaliumquecksilberjodid auf Alkaloide geprüft, ohne dass Fällungen eingetreten wären.

1,0 g Extrakt wurde hierauf mit angesäuertem Wasser behandelt. Nachdem die wässerige Lösung alkalisch gemacht worden war, wurde sie mit Petroläther ausgeschüttelt. Um ein allfällig in den Petroläther übergegangenes Alkaloid nachzuweisen, wurde der Petroläther mit angesäuertem Wasser ausgeschüttelt und die wässerig-saure Lösung mit den Alkaloidfällungsmitteln versetzt. Auch auf diese Weise konnte kein Alkaloid nachgewiesen werden.

1,0 g Extrakt wurde in 20 ccm Azeton gelöst. Diese Lösung wurde mit Wasser bis zum Eintreten einer Fällung versetzt. Es wurde abfiltriert; das Filtrat wurde in den Eisschrank gestellt, wobei eine neue Ausscheidung erfolgte. Die abfiltrierte Lösung schmeckte bitter und war gelb gefärbt.

Die Hauptmenge des Extraktes, die nach diesen Vorversuchen noch 70 g betrug, wurde in nicht ganz 2500 ccm Azeton gelöst und mit Wasser bis zur bleibenden Trübung versetzt. Die ca. 3 l messende braune Lösung liess man während 24 Stunden in der Kälte defäkieren. In den chromatographischen Vorversuchen hatte es sich gezeigt, dass durch die Defäkation der Stoff, der im ultravioletten Licht die blaue Fluoreszenz bewirkt hatte, nicht berührt wurde. Aus den Vorversuchen ging ebenfalls hervor, dass der wasserlösliche «Bitterstoff» unverändert in der durch Defäkation gereinigten gelben Lösung enthalten war (vgl. S. 19).

Nach dieser ersten Defäkation wurde abfiltriert. Das Filtrat wurde im Sikkotopf auf 1,5 l gebracht und die so eingeengte Lösung abermals im Eisschrank defäkiert. Diese Behandlungsweise wurde noch dreimal wiederholt. Als die Lösung 700 ccm betrug, wurde sie mit Tierkohle am Rückflusskühler erwärmt. Die abfiltrierte und klar gelbe Lösung wurde im Vakuum auf 300 ccm gebracht. Die Lösung schmeckte äusserst bitter. Als eine neuerliche Eisdefäkation keine nennenswerte Ausfällung bewirkte, wurde die Lösung im Vakuum zur Trockne gebracht. Die durch die Eisdefäkation erhaltenen Ausscheidungen wurden gesammelt und zusammen im Vakuumexsikkator getrocknet.

So wurde das Chloroformextrakt aufgearbeitet in einen Anteil, der den wasserlöslichen « Bitterstoff » (Anteil B) und einen andern, der die bei der Defäkation erhaltenen Ausscheidungen (Anteil A) enthielt.

Anteil A: Die durch Defäkation erhaltenen Ausscheidungen wurden nach dem Trocknen in 200 ccm Chloroform gelöst. Diese Lösung wurde durch reines Aluminiumoxyd chromatographiert. Die mit 100 ccm Chloroform entwickelte Säule zeigte bei Tageslicht verschiedene Zonen, die von oben nach unten aufgezählt dunkelgrün, braungrün, olivengrün, grün und dunkelgrün gefärbt waren. Unter der Quarzlampe betrachtet, fluoreszierten diese Zonen von braunrot bis rot. In der oberen Hälfte der Adsorptionssäule zeigte sich eine schmale, blau gefärbte Zone, welche bewies, dass doch nicht der gesamte, diese Färbung erzeugende Körper in die wässerige Lösung übergegangen war.

Die einzelnen Säulenteile wurden nicht weiter untersucht. Die auftretenden Farbstoffzonen, im Tageslicht betrachtet grün, im ultravioletten Licht in den verschiedenen Rot fluoreszierend, liessen auf Chlorophyll schliessen, das ja auch im Chloroformextrakt als Bestandteil zu erwarten war.

Der Chromatogrammdurchlauf war sowohl bei Tageslicht als auch unter der Quarzlampe betrachtet gelb. Nachdem dieser eingeengt worden war, schieden sich gelbliche, drusen- und nadelförmige Kristalle aus. Sie wurden abfiltriert. Das Filtrat war orange gefärbt und wurde zur weiteren Untersuchung beiseitegelegt (vgl. S. 34).

Eine Spur der Kristalle wurde in Chloroform gelöst und mit konzentrierter Schwefelsäure versetzt. Die Chloroformschicht färbte sich blutrot, während die Schwefelsäureschicht leicht braun wurde. Diese nach *Hesse-Salkowsky* ausgeführte Reaktion zeigte ein Phytosterin an. Die Kristalle wurden nun in heissem Alkohol gelöst. Beim Erkalten kristallisierte ein aus nadelförmigen Kristallen bestehender Teil aus. Diese zeigten jedoch keine Sterinreaktion und besassen einen konstanten Schmelzpunkt von 62°. Ihr Mischschmelzpunkt mit Palmitinsäure zeigte keine Depression. Bei dieser ersten Fraktion handelte es sich daher um *Palmitinsäure.*

Die Mutterlauge der Palmitinsäurekristallisation lieferte nach zweimaligem Eindampfen zwei weitere kristalline Fraktionen, die beide stark positive Sterinreaktionen gaben. Es wurden ausgeführt:

Die bereits erwähnte Reaktion nach *Hesse-Salkowsky.*

Die Reaktion nach *Liebermann:* Etwas Substanz wurde in heissem Essigsäureanhydrid gelöst und zu der erkalteten Flüssigkeit wurden einige Tropfen konzentrierter Schwefelsäure gegeben. Zuerst trat Blaufärbung ein, die über violett in grün überging.

Die Reaktion nach *Hirschsohn:* Eine Spur Substanz wurde mit flüssiger Trichloressigsäure bis zum Aufkochen erhitzt, wobei eine rote Färbung eintrat.

Der Schmelzpunkt der ersten Fraktion, die 0,2 g betrug, konnte trotz wiederholtem Umkristallisieren aus absolutem Alkohol nicht über 85 °—86 ° gebracht werden, derjenige der zweiten Fraktion, die nicht ganz 0,1 g wog, nicht über 35 °—37 °.

Da beide Fraktionen die typischen Sterinreaktionen gegeben hatten, wurde die Reinigung nach dem von *Rosenthaler* [23]) und *Klein* [24]) für Phytosterine angegebenen Weg versucht. Beide Anteile wurden zusammen in genügend Alkohol gelöst und mit einer 1prozentigen alkoholischen Lösung von Digitonin versetzt, bis kein Niederschlag mehr erfolgte. Dann wurde 24 Stunden stehen gelassen und filtriert. Das Filtrat wurde abermals mit der Digitoninlösung versetzt und 24 Stunden in der Kälte stehen gelassen, ohne dass eine neuerliche Ausscheidung erfolgt wäre. Es wurde daher verworfen. Das abfiltrierte Sterindigitonid wurde mit 10 ccm Essigsäureanhydrid eine halbe Stunde am Rückflusskühler gekocht. Das Reaktionsprodukt wurde in 40 ccm 50prozentigen Alkohol gegossen, der entstehende Niederschlag von Sterinazetat abfiltriert und solange mit 50prozentigem Alkohol ausgewaschen, bis die ablaufende Waschflüssigkeit nicht mehr sauer reagierte. Es wurde dann mit Aether auf dem Filter gelöst, der Aether verjagt und der Rückstand aus absolutem Alkohol mehrmals unter Zusatz von Tierkohle umkristallisiert. Nach dreimaliger Umkristallisation stieg der Schmelzpunkt von 105 ° auf 118 °—120 °, wobei er aus den beiden letzten Umkristallisationen konstant blieb, jedoch nicht scharf beobachtet werden konnte. Das Phytosterinazetatbromid konnte leider nicht mehr dargestellt werden, da die Substanz nur noch zu diesen Schmelzpunktbestimmungen ausgereicht hatte. In « Achillea millefolium » ist von *Graham* [25]) ein Sterin isoliert worden, das einen unscharfen Schmelzpunkt von 134 °—135 ° und einen ebenfalls unscharfen Schmelzpunkt des Azetates von 123 °—124 ° hatte. Dieses Sterin ist dann von *Gisvold* [26]) als ein Gemisch von Stigmasterin und Sitosterin identifiziert worden, in welchem Sitosterin vorherrschte. Es ist möglich, dass es sich beim Sterin aus « Achillea moschata » ebenfalls um ein Gemisch von Stigmasterin und Sitosterin handelt.

Der Chromatogrammdurchlauf, aus dem das Sterin isoliert worden war, wurde weiter eingeengt, wobei er eine intensivere orange Farbe annahm. Er wurde in der Kälte stehen gelassen, wobei nach 24 Stunden kleine orangerote Nadeln in geringer Menge auskristal-

[23]) **Rosenthaler L.,** a. a. O.

[24]) **Klein G.,** Handbuch der Pflanzenanalyse.

[25]) **Graham,** Chemisches Zentralblatt 1934, Bd. I, S. 81.

[26]) **Gisvold O.,** Journal of the American Pharmaceutical Association 1935, H. 24, S. 1071.
Chemisches Zentralblatt 1936, Bd. I, S. 4758.

lisierten. In Wasser waren sie unlöslich. Aus heissem Alkohol liessen sie sich umkristallisieren, indem sie beim Erkalten der heissen alkoholischen Lösung wieder ausfielen. In Chloroform waren sie leicht löslich. Sie besassen einen undeutlichen Schmelzpunkt von 160 °—164 °. Die in standarisiertem Aluminiumoxyd chromatographierte Benzollösung ergab ein Bild, das im Tageslicht eine obere braune Zone und eine grössere orange Zone aufwies, die im ultravioletten Licht braun beziehungsweise gelblich fluoreszierte. Das Bild hatte eine grosse Aehnlichkeit mit dem von *Frank*[27]) für Carotinoide beschriebenen Chromatogramm. Die in der Literatur[28]) angegebenen Schmelzpunkte für Carotin betragen 172 ° — 174 °, 183 ° — 184 °, 184 ° — 185 °. Wahrscheinlich handelt es sich daher bei den isolierten orangegelben Nadeln um *unreines Carotin.*

Anteil B: Das Extrakt aus dem wasserlöslichen « Bitterstoff » im Gewicht von nicht ganz 2 g wurde in 200 ccm einer Mischung aus gleichen Teilen Chloroform und Aether gelöst. Diese Lösung wurde chromatographiert. Hierbei erhielt man ein Bild, das eine sowohl im Tageslicht als auch unter der Quarzlampe braun gefärbte obere Zone enthielt, deren Eluat nach dem Verjagen des Lösungsmittels einen braunen, gummiartigen Rückstand hinterliess, der nicht bitter schmeckte. Die nächstfolgenden Zonen liefen ineinander über, wobei sie im Tageslicht gelblich gefärbt waren und im ultravioletten Licht grün bis blau fluoreszierten. Diese Zonen wurden mit Methylalkohol ausgezogen, letzterer im Vakuum entfernt und der braun gefärbte Rückstand in 100 ccm Benzol gelöst. Diese 1prozentige Benzollösung wurde erneut chromatographiert und das Chromatogramm mit einer Mischung von Benzol-absolutem Alkohol 19 + 1 entwickelt. Jetzt liessen sich ausser der bereits im ersten Chromatogramm erhaltenen braunen Zone zwei im ultravioletten Licht blau leuchtende Farbzonen erkennen, die bereits in den Chromatogrammen des Aetherextraktes beobachtet und untersucht worden waren. Sie wurden mit Methylalkohol eluiert; nach dem Verjagen des Elutionsmittels blieb eine braune, harzige und schwach bitter schmeckende Schmiere zurück, in der gelbe, fächerförmige Kristalle eingeschlossen waren. Diese Kristalle liessen sich durch kein Lösungsmittel herauslösen, und auch Versuche, das harzige Einschlussmittel durch Lösungsmittel zu entfernen, misslangen. Da die Ausbeute äusserst klein war, wurde eine weitere Aufarbeitung unterlassen.

Der Chromatogrammdurchlauf hinterliess nach dem Entfernen des Lösungsmittels einen gelben, bitter schmeckenden, harzigen Rückstand, der zum «Bitterstoff» (vgl. S. 49) gegeben wurde.

[27]) **Frank R.,** a. a. O.
[28]) **Klein G.,** a. a. O.

Ein kurzer Rückblick auf das Chloroformextrakt ergibt die Abscheidung eines *wasserlöslichen « Bitterstoffes »* neben der Isolierung eines *Sterins,* dessen Azetylierungsprodukt einen unscharfen Schmelzpunkt von 118°—120° aufwies. Daneben gelang der Nachweis von *Palmitinsäure* und eines aus orangeroten Nadeln bestehenden Körpers vom Schmelzpunkt 160°—164°, der *unreines Carotin* sein dürfte.

3. Methylalkoholextrakt.

Das Gewicht des Methylalkoholextraktes betrug 510 g, entsprechend einer Ausbeute von 17%, etwas mehr als bei der Vorprobe erhalten wurde (vgl. Tab. II).

Das Extrakt war durch Chlorophyll noch immer grün gefärbt; es war stark hygroskopisch, von zäher Konsistenz und schmeckte bitter und adstringierend. Bis auf einen kleinen Rest löste es sich schon in der Kälte sowohl in Wasser als auch in Methylalkohol. In warmem Aethylalkohol löste es sich bis auf einen geringen braungrünen, zähen und säuerlich zusammenziehend schmeckenden Teil. Auch mit Azeton blieb ein kleiner Rest ungelöst, der schwach bitter schmeckte. In Benzol, Essigäther, Chloroform, Petroläther und Benzin war das Extrakt unlöslich.

Eine Aufarbeitung des Extraktes allein auf chromatographischem Wege war nicht gegeben, schon der grossen Extraktmenge wegen, die der Adsorptionsanalyse bedeutende technische Schwierigkeiten entgegengestellt hätte. In einem Vorversuch wurde daher das Verhalten der wässerigen Extraktlösung gegenüber Bleiazetat und Bleiessig geprüft, um die Aufarbeitung nach dem Verfahren der Bleimethode vorzunehmen.

10 g Extrakt wurden in Wasser gelöst und mit soviel Bleiazetat versetzt, bis keine weitere Fällung mehr erfolgte. Es wurde abfiltriert und das Filtrat mit Bleiessig versetzt, wodurch eine neue Fällung eintrat. Auf Grund dieses Verhaltens wurde das Extrakt nach der *Bleimethode* weiter untersucht.

500 g Extrakt wurden in 6 l Wasser, das eine Temperatur von 80° hatte, gelöst. Diese Lösung wurde mit einer warmen 50prozentigen Bleiazetatlösung bis zur vollständigen Fällung versetzt. Den grüngelben *Niederschlag A* liess man absetzen und heberte dann die überstehende Flüssigkeit ab. Ersteren reinigte man, indem man ihn mit je 3 l Wasser dreimal gut durchmischte, und, nachdem er sich wieder abgesetzt hatte, die Waschwasser durch Abhebern und Abnutschen entfernte. Das zuletzt ablaufende Waschwasser reagierte nicht mehr sauer.

Die Waschwasser wurden im Vakuum bei 30° auf 1 l konzentriert und zusammen mit der ersten abgeheberten Flüssigkeit mit

Bleiessig gefällt, wobei der gelbe *Niederschlag B* von der *Flüssigkeit F* in gleicher Weise wie der Niederschlag A abgetrennt und gewaschen wurde.

Der *Niederschlag A* wurde noch feucht in 70prozentigem Alkohol suspendiert und in üblicher Weise mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Das abfiltrierte Bleisufid wurde zur weiteren Behandlung auf die Seite gelegt (vgl. S. 44). Nach teilweisem Einengen des Filtrates wurde abermals Schwefelwasserstoff eingeleitet, um sicher alles Blei zu entfernen. Die Lösung wurde über Nacht in der Kälte stehen gelassen. Die geringe Ausscheidung wurde abfiltriert und zum Bleisulfid gegeben. Hierauf wurde das Filtrat durch Einleiten von Kohlensäure vom Schwefelwasserstoff befreit und im Vakuum zum Extrakt gebracht. Dieses war grünlich gefärbt und wog 450 g. Es war zum Teil in Benzol, Aether und Chloroform löslich. Durch warmen Alkohol wurde es vollständig gelöst, ebenso von kaltem Methylalkohol. Zwei Probechromatogramme aus je 10 ccm 1prozentigen Lösungen in Benzol und Methylalkohol zeigten gleiche Bilder. Für die zu chromatographierende Lösung wurde Methylalkohol gewählt, da die Löslichkeit des Extraktes in diesem Lösungsmittel besser war als in Benzol. Vorerst handelte es sich um eine grobe Trennung der Inhaltsstoffe. Eine 10prozentige Lösung des Extraktes in Methylalkohol wurde chromatographiert. Als Adsorptionsmittel wurde eine aus Floridin XXF und reinem Aluminiumoxyd bestehende Säule benutzt, wobei die Säule einen Durchmesser von 2,5 cm und eine Höhe von 40 cm aufwies. Das Floridin nahm das oberste Drittel der Adsorptionssäule ein. Selbstverständlich wurde die 4 l betragende Lösung nicht durch eine einzige Säule chromatographiert, sondern es wurden vier parallele Versuche durchgeführt. Das chromatographische Bild wurde nicht weiter entwickelt. Wenn die erhaltenen Zonen auch nicht scharf voneinander getrennt waren, so zeigte es sich doch, dass durch den Floridinteil und einen kleinen Streifen des Aluminiumoxydes ein brauner Stoff zurückgehalten wurde. Der untere Teil der Säule und der Chromatogrammdurchlauf waren gelb gefärbt und leuchteten unter der Quarzlampe blau auf. Die Säule wurde aus dem Glasrohre herausgestossen und nach Farbzonen zerschnitten. Die *braune Zone* wurde vorläufig beiseitegestellt (vgl. S. 40).

Die im ultravioletten Licht blau fluoreszierende Zone wurde mit Methylalkohol eluiert und das Eluat zum Durchlauf gegeben. Nach dem Verjagen des Lösungsmittels im Vakuum blieb ein 15 g betragender brauner Rückstand zurück. Er war in Benzol löslich. 1 l der 1prozentigen Benzollösung wurde durch eine Adsorptionssäule aus Aluminiumoxyd, die eine Höhe von 40 cm und einen Durchmesser von 2,5 cm hatte, chromatographiert. Das Bild wurde

durch Aufgiessen einer Mischung von Benzol-absolutem Alkohol 99 + 1 so weit entwickelt, bis im ultravioletten Licht drei deutlich voneinander getrennte Farbzonen erschienen: eine obere braune Zone, Zone I, die nur 3 cm breit war und zwei blaue Zonen, Zonen II und III, die den übrigen Teil der Säule fast zu gleichen Teilen ausfüllten. Zone II besass ein intensiveres Blau als Zone III.

Die *braune Zone I* wurde mit der im ersten Chromatogramm erhaltenen gleichfarbigen Zone vereinigt.

Die *Zone II* wurde mit Methylalkohol eluiert; nach dem Verjagen des Elutionsmittels im Vakuum bestand der geringe Rückstand aus grossen, federförmigen, gelbbraunen Kristallen. Sie waren fast unlöslich in kaltem, etwas besser löslich in heissem Wasser. In Benzol, Aether und Chloroform waren sie nur zu einem geringen Teil löslich, in Methylalkohol hingegen lösten sie sich gut. Bei der Schmelzpunktbestimmung sanken die Kristalle im Schmelzröhrchen bei 120 ° zusammen, wurden bei 290 ° dunkelbraun und schmolzen undeutlich bei 318 °—325 °. Versuche, die Kristalle durch Umkristallisation aus allen möglichen Lösungsmitteln und Mischungen von solchen zu reinigen, führten zu keinem besseren Resultat.

Die *Zone III* wurde auf dieselbe Art wie die Zone II behandelt. Auch aus ihr wurden Kristalle erhalten, die in ihren Eigenschaften den aus der Zone II erhaltenen entsprachen. Die Kristalle aus beiden Zonen wurden vereinigt und als *Farbstoffkristalle* vorläufig beiseitegestellt (vgl. S. 40).

Mit dem *Niederschlag B* (vgl. S. 37) wurde in gleicher Weise verfahren wie mit dem Niederschlag A. Der entbleite und gereinigte Bleiessigniederschlag war rein gelb gefärbt und wog 100 g. Das bei der Entbleiuung gewonnene Schwefelblei wurde zur weiteren Untersuchung beiseitegelegt (vgl. S. 44).

1 l einer 10prozentigen Lösung in einer Mischung gleicher Teile Benzol-Methylalkohol wurde durch eine Adsorptionssäule, die der beim Niederschlag A verwendeten entsprach, filtriert. Das Chromatogramm zeigte dieselben Farbzonen wie das Chromatogramm des Bleiazetatniederschlages. Der Chromatogrammdurchlauf hingegen war schwach gelb gefärbt und fluoreszierte unter der Quarzlampe betrachtet nicht blau. Es wurden auf diese Weise erhalten: eine braune Farbzone, zwei im ultravioletten Licht blau fluoreszierende Zonen und der gelbe Chromatogrammdurchlauf.

Die braune Farbzone wurde auf die Seite gestellt (vgl. S. 40).

Die beiden im ultravioletten Licht blau fluoreszierenden Zonen wurden mit Methylalkohol eluiert. Nach dem Verjagen des Lösungsmittels im Vakuum blieben aus beiden Eluaten federförmige, gelbbraune Kristalle zurück. Sie hatten dieselben Eigenschaften wie die

aus den Zonen II und III des Niederschlages A erhaltenen Farbstoffkristalle. Sie wurden mit diesen vereinigt (vgl. S. 40).

Der gelbe, 600 ccm betragende Chromatogrammdurchlauf wurde im Vakuum auf 200 ccm konzentriert. Nach 12stündigem Stehenlassen in der Kälte hatten sich gelblich-weisse Kristallplatten ausgeschieden, die abfiltriert wurden. Nach dem nochmaligen Einengen der Lösung auf ca. 100 ccm wurde abermals eine kristallinische Ausscheidung erhalten, die im Verhältnis zur ersten Ausscheidung äusserst gering war. Die letzte Mutterlauge lieferte beim Eindunsten nur noch gelbe Schmieren, die verworfen wurden. Die Kristalle waren wasserunlöslich, Alkohol löste sie nur in der Hitze. In Chloroform, Aether und Benzol waren sie gut löslich. Sie wurden in Alkohol warm gelöst und mit Tierkohle am Rückflusskühler erhitzt. Die so gereinigte Lösung wurde durch einen Heisswasserfilter filtriert. Die nach dem Erkalten ausgeschiedenen rein weissen Kristallschuppen besassen einen Schmelzpunkt von 124°. Die Ausbeute betrug nur 0,4 g.

Zur weiteren Reinigung wurden die Kristalle in absolutem Alkohol warm gelöst und diese Lösung mit wenigen Tropfen Wasser bis zur Trübung versetzt. Daraus kristallisierten im Eisschrank seidenglänzende Schuppen. In dreimaliger Umkristallisation aus absolutem Alkohol stieg der Schmelzpunkt sukzessive von 124° auf 127°, um dann konstant zu bleiben. Die Kristalle wurden in Aether gelöst und der Aether verdunsten gelassen. Die nun eintretende Kristallisation erfolgte in Form langer Nadeln und Nadelbüschel, die denselben Schmelzpunkt von 127° besassen. Beim Erhitzen im Glührörchen sublimierte die Substanz. Weder Säure noch Lauge vermochten die Kristalle zu lösen, auch nicht nach längerem Erhitzen. Die allgemeine Reaktion auf Kohlehydrate verlief negativ. Wohl wurde bei der mit Thymol versetzten alkoholischen Lösung nach dem Unterschichten mit konzentrierter Schwefelsäure an der Berührungsstelle ein rötlicher Ring sichtbar, und auch beim Umschütteln färbte sich die ganze Flüssigkeit schwach rot, doch trat beim Ersetzen des Thymols durch α-Naphtol überhaupt keine sichtbare Reaktion ein. Fehlingsche Lösung wurde nicht reduziert, auch dann nicht, wenn die Kristalle vorher in verdünnter Salzsäure erhitzt worden waren. Es konnte also kein Glykosid vorliegen. Die Reaktion nach *Hesse* auf Sterine verlief negativ, ebenso die *Hirschsohnsche Reaktion*. Eine sehr schöne Farbreaktion erfolgte, nachdem etwas Substanz in heissem Essigsäureanhydrid gelöst und zu der erkalteten Flüssigkeit zwei Tropfen konzentrierter Schwefelsäure gegeben worden waren. Zuerst trat Blaufärbung ein, die bald intensiver wurde und schliesslich in ein prächtiges Grün überging. Diese für Sterine typische *Liebermannsche Reaktion* genügte jedoch nicht,

um den Körper als Sterin eindeutig zu charakterisieren, da die übrigen Farbstoffreaktionen der Sterine negativ ausgefallen waren.

Die Kristalle wurden zwecks weiterer Identifizierung azetyliert, indem man 0,3 g mit ebensoviel wasserfreiem Natriumazetat und 3 g Essigsäureanhydrid ¾ Stunden im Azetylierungskölbchen erhitzte. Das Reaktionsprodukt wurde in Wasser gegossen, wobei sich bald weisse Kristallnadeln ausschieden. Nach 12stündigem Stehenlassen wurden die Kristalle abfiltriert und aus absolutem Alkohol umkristallisiert. Der Schmelzpunkt dieses Azetylderivates lag nach zweimaliger Umkristallisation aus absolutem Alkohol konstant bei 106°. Ein Vergleich der Schmelzpunkte des reinen und des azetylierten Körpers mit der Literatur[29]) liess auf keinen bestimmten Stoff schliessen.

Die aus den Zonen II und III der Niederschläge A und B erhaltenen *Farbstoffkristalle* (vgl. S. 37 ff.), die zusammen etwa 0,2 g betrugen, hatten sich durch Umkristallisationsversuche aus den verschiedenen Lösungsmitteln nicht reinigen lassen. Es wurde deshalb versucht, sie zu azetylieren, um auf diesem Wege wenn möglich zu einem eindeutigen Schmelzpunkt zu gelangen. Schon nach kurzem Erhitzen mit entwässertem Natriumazetat und Essigsäureanhydrid im Azetylierungskölbchen wurde die Flüssigkeit braun, dann schwarz. Beim Eingiessen in Wasser schieden sich dunkle, schleimige Schmieren ab. Durch diese unerwartete Zersetzung gingen die aus den Zonen II und III erhaltenen Kristalle verloren.

Die aus den Chromatogrammen der Niederschläge A und B erhaltenen *braunen Farbzonen* (vgl. S. 37 ff.) wurden gesondert Vorproben unterworfen. Mit Wasser eluiert, wurden aus beiden Zonen braungefärbte Lösungen erhalten, die süsslich adstringierend schmeckten, sauer reagierten und mit Ferrichloridreagens eine grüne Färbung gaben. Es mussten in beiden Zonen *Gerbstoffe* vorliegen. Darum wurden sie zusammen weiteruntersucht. Beim Eluieren hatte es sich gezeigt, dass Wasser allein nicht allen Gerbstoff herauszulösen vermochte, was daran zu erkennen war, dass die Farbzone der Adsorptionssäule auch nach wiederholtem Behandeln mit Wasser braun gefärbt blieb. Da die Reaktion mit Ferrichlorid auf Gerbstoffe hinwies, musste ein Eluieren mit heissem Wasser vermieden werden. Versuche, die Farbzone mit Benzol, Chloroform und Aether auszuziehen, zeigten keine befriedigenden Resultate. Dagegen liess sie sich durch wiederholtes Behandeln mit 0,5prozentiger Natronlauge vollständig eluieren. Die vereinigten Eluate betrugen 5 l. Nachdem eine kleine Probe gezeigt hatte, dass das Versetzen mit Salzsäure bis zur Neutralisation eine Ausfällung bewirkte, wurde die gesamte Menge mit Salzsäure versetzt. Die

[29]) **Kempf-Kutterer,** Schmelzpunkttabelle.

Ausfällung wurde abfiltriert und mit Wasser gewaschen, bis die ablaufende Flüssigkeit mit Ferrichlorid keine Grünfärbung mehr gab. Der abfiltrierte Niederschlag war von amorpher Beschaffenheit und wog nach dem Trocknen im Vakuumexsikkator 17 g. Er war weder in Wasser noch in Alkohol, Methylalkohol, Chloroform, Aether, Benzol, Toluol oder Amylalkohol löslich. In verdünnter Natronlauge löste er sich leicht. Diese gelbe Lösung gab mit Ferrichlorid keine Farbreaktion. Aus ihr wurde der amorphe Niederschlag wieder durch Ausfällen mit Salzsäure erhalten. Es mussten Phlobaphene, Zersetzungsprodukte von Gerbstoffen, vorliegen und die Art, wie die Ausfällung durch Salzsäure erhalten worden war, liess auf Ellagsäure schliessen. Um auf diese zu prüfen, wurde nach den Angaben von *Klein* [30]) verfahren. Danach wird die Ellagsäure aus Pyridin umkristallisiert. Das gelbe Pyridinsalz wird mit viel Wasser verkocht, wobei die reine Ellagsäure sich in schön ausgebildeten Kristallen ausscheiden soll. 5 g Substanz wurden mit 50 ccm Pyridin heiss versetzt, wobei der grössere Anteil ungelöst zurückblieb. Nachdem aus der Pyridinlösung auch nach längerem Stehen im Eisschrank keine Auskristallisation erfolgt war, wurde das Pyridin im Vakuum abdestilliert, bis noch ca. 20 ccm Lösung zurückblieben. Auch daraus kristallisierte nichts aus. Nun wurde das Pyridin im Vakuum vollständig abdestilliert; der zurückbleibende braune Rückstand wurde mit 200 ccm Wasser verkocht. Als sich beim Erkalten nur braune Schmieren ausschieden, wurde abermals längere Zeit gekocht, ohne dass beim Erkalten etwas anderes als braune Schmieren herausgekommen wären.

Da es nicht gelang, durch Lösungsmittel auf direktem Wege zu einem wohldefinierten Körper zu gelangen, versuchte ich auf dem Umwege über die Azetylierung zum Ziele zu kommen. Zu diesem Zwecke wurden 5 g Substanz mit 5 g geschmolzenem Natriumazetat und 50 ccm Essigsäureanhydrid eine Stunde lang am Steigrohre erhitzt. Dann wurde das Produkt in Wasser gegossen und über Nacht stehen gelassen. Dabei schied sich ein schwarzer, schmieriger Körper aus. Da auch dieser Versuch der Identifizierung auf Ellagsäure misslang, wurde auf eine weitere Untersuchung verzichtet.

Die von den Phoblaphenen abfiltrierte braune, wässerige Lösung wurde im Vakuum zum Extrakt eingeengt, vor allem, um ein Aufbewahren des gerbstoffhaltigen Anteils ohne Gefahr des Schimmligwerdens zu ermöglichen. Der im Exsikkator getrocknete Rückstand wog 66 g.

Es wurden 100 ccm einer 5prozentigen wässerigen Lösung bereitet, um damit einige Vorversuche anzustellen.

---

[30]) **Klein G.,** a. a. O., Bd. II, S. 364.

Zuerst wurde nach der von *Klein* [31]) angegebenen Weise auf freie Gallussäure geprüft. Einige Tropfen der zu prüfenden Lösung wurden mit 2 ccm einer wässerigen Lösung von Cyankali versetzt. Bei Anwesenheit von freier Gallussäure soll die Lösung eine schöne Rosafärbung annehmen, die kurz darauf verblasst, um beim Schütteln wieder zu erscheinen. Die Reaktion verlief negativ.

Eine zweite Reaktion wurde, ebenfalls nach den Angaben von *Klein,* ausgeführt, um auf gebundene Ellagsäure zu prüfen. In einer Porzellanschale wurden 5 ccm der Lösung mit Natriumnitrit und 5 Tropfen 0,1n-Schwefelsäure versetzt. Es entstand eine braune Färbung. Bei Anwesenheit von gebundener Ellagsäure hätte die Lösung sofort eine rote Färbung annehmen müssen, um dann in Purpur und Blau umzuschlagen. Auch diese Reaktion verlief also negativ.

Endlich wurden 20 ccm der wässerigen Lösung mit Essigäther ausgeschüttelt. Der Essigätheranteil wurde mit wenig Wasser gewaschen und unter geringem Druck verdampft. Der Rückstand bestand aus braunen, straussartigen Kristallen. Diese wurden in Alkohol gelöst und mit einigen Tropfen einer alkoholischen Eisenchloridlösung versetzt. Eine prächtige Grünfärbung zeigte die Anwesenheit eines Catechingerbstoffes.

Die Reinigung des Gerbstoffextraktes wurde nach dem von *Klein* [32]) angegebenen « Essigätherverfahren » vorgenommen. 50 g Extrakt wurden in 100 ccm Wasser gelöst. Diese Lösung wurde mit Calciumcarbonat versetzt, bis sie nur noch schwach sauer reagierte. In der neutralisierten Lösung sollen beim Ausschütteln mit Essigäther nicht nur alle Zucker, Pektine, Salze und freien Carbonsäuren zurückbleiben, sondern auch ein Teil der zuckerreichen Beimengungen und der stark gefärbten Verunreinigungen. Es wurde nacheinander mit je 100 ccm Essigäther ausgeschüttelt. Um die Ausschüttelung mit möglichst wenig Essigäther und doch gründlich vorzunehmen, wurde hierauf die wässerige Lösung durch Perforation mit Essigäther bis zur Erschöpfung ausgezogen. Die Essigätheranteile wurden vereinigt und der Essigäther im Vakuum abdestilliert. Bevor sämtlicher Essigäther verjagt worden war, wurde etwas Wasser hinzugegeben, um den anhaftenden Essigäther vollständig zu entfernen. Der braune Rückstand wurde nach dem Trocknen im Exsikkator in wenigen ccm siedend heissem Wasser gelöst und die Lösung in den Eisschrank gestellt. Nach 12 Stunden waren braungelbe Kristallprismen auskristallisiert. Sie wurden von der Mutterlauge abzentrifugiert. Die Mutterlauge selber hinterliess

[31]) **Klein G.,** a. a. O., Bd. II, S. 352.
[32]) **Klein G.,** a. a. O.

nach dem Einengen nur eine braune Schmiere. Die Kristallprismen wurden dreimal aus heissem Wasser umkristallisiert. Nach der zweiten Umkristallisation hatten sie einen unscharfen Schmelzpunkt von 164 °—166 °, nach der dritten einen solchen von 159 °. Ihr Gewicht betrug nach diesen drei Umkristallisationen 0,35 g. Zur weiteren Reinigung wurden sie nochmals aus Wasser unter Zusatz von Kohle umkristallisiert, wobei ihr Schmelzpunkt auf 150 °—151 ° herunterfiel und ihr Gewicht nur noch 0,2 g ausmachte. Sie lösten sich leicht in Methyl- und Aethylalkohol, in Essigäther und Azeton, schlecht in Aether und Chloroform. In kaltem Wasser waren sie fast unlöslich, in heissem Wasser leichter löslich. Eine alkoholische Lösung färbte sich auf Zusatz von einigen Tropfen alkoholischer Eisenchloridlösung tiefgrün, wurde dann grau und trübte sich; ein dunkler Niederschlag setzte sich ab, während die überstehende Flüssigkeit farblos wurde. Gab man zur grünen Lösung etwas Natriumazetat, so ging die grüne Farbe in Tiefviolett über. Silbernitrat wurde in der Kälte, Fehlingsche Lösung erst nach dem Erhitzen reduziert. Gegen Lakmus reagierte die Lösung sauer. Diese Reaktionen wiesen eindeutig auf *Catechin* [33]) hin. Was das Verhalten beim Umkristallisieren anbetrifft, wo der zuerst beobachtete Schmelzpunkt von 164 °—166 ° auf 150 °—151 ° heruntersank, so ist diese Eigenschaft auch von *Reber* [34]) beschrieben worden. Die Schmelzpunkte der von *Reber* aus Tormentillwurzel und Eichenrinde erhaltenen Catechine lagen zuerst bei 198 °—202 °, um nach dem Umkristallisieren auf 175 °—178 ° herunterzufallen.

Herr Prof. *Casparis* überliess mir in zuvorkommender Weise als Vergleichssubstanz ein aus Cola isoliertes Catechin. Dieses besass bei seiner Darstellung einen unscharfen Schmelzpunkt von 200 °—205 ° [35]). Nach *Reber* [36]) ist dieses Colacatechin *d-Catechin* mit beigemischtem *l-Epicatechin*. Der von mir ermittelte Schmelzpunkt betrug 150 °. Das Colacatechin wurde aus wenig heissem Wasser unter Zusatz von Tierkohle umkristallisiert. Dabei wurde die Beobachtung gemacht, dass der Schmelzpunkt kurz nach der Umkristallisation bei 198 ° lag, um nach einer 24stündigen Aufbewahrung des Catechins im Exsikkator nur noch 158 ° zu betragen. Der Mischschmelzpunkt dieses aus Cola isolierten Catechins vom Schmelzpunkt 158 ° mit den aus der Iva isolierten Kristallen vom Schmelzpunkt 150 °—151 ° lag bei 156 °. Daraus und aus den positiven

---

[33]) **Casparis P.,** Ueber Inhaltsbestandteile frischer Kolanüsse. Pharm. Acta Helv. 1929, Nr. 10, S. 181.

[34]) **Reber K.,** Beiträge zur Kenntnis des Vorkommens von Catechinen in Gerbstoffdrogen. Diss. Basel 1931.

[35]) **Casparis P.,** a. a. O., S. 181.

[36]) **Reber K.,** a. a. O.

Catechinreaktionen ist ersichtlich, dass es sich bei dem aus den Bleiniederschlägen erhaltenen kristallinen Stoff um *Catechin* handelt.

Die *Flüssigkeit F* (vgl. S. 37) wurde ebenfalls mit Schwefelwasserstoff entbleit. Das resultierende *Schwefelblei* wurde mit dem aus den Niederschlägen A und B gewonnenen vereinigt. Da es bei seiner Bildung färbende und trübende Substanzen mitreissen kann, wurde es solange mit kleinen Portionen Wasser ausgekocht, bis die abfiltrierten Auskochungen nicht mehr gelb gefärbt waren. Es wurde so eine Menge von 10 l erhalten, die im Vakuum bei 30 ° auf 1 l eingeengt wurde. 30 ccm dieser wässerigen Lösung wurden mit Aether ausgeschüttelt, wobei die Aetherschicht die Gelbfärbung übernahm. 10 ccm dieser Aetherlösung wurden durch ein kleines Glasrohr von 1 cm Durchmesser und 12 cm Länge, das mit reinem Aluminiumoxyd beschickt war, chromatographiert und mit 5 ccm Aether entwickelt, wobei folgendes Chromatogramm resultierte:

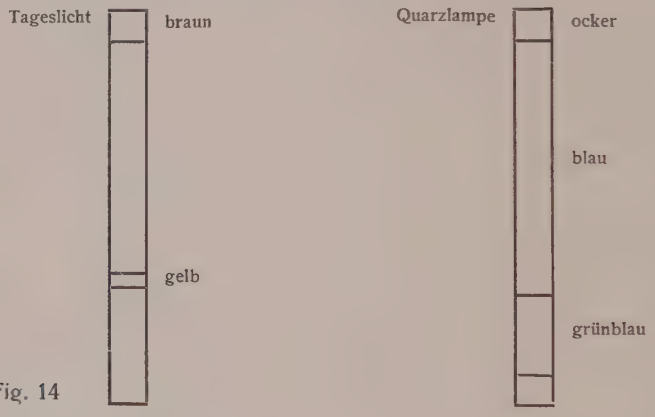

Fig. 14

Der gelbe Durchlauf hinterliess nach dem Verdunsten des Aethers einen gelbbraunen, harzigen Rückstand, der bitter schmeckte.

Nach dieser Voruntersuchung wurde die bereits auf 1 l eingeengte wässerige Bleisulfidauskochung mit Aether perforiert. Das Perforat, das 100 ccm betrug, wurde vorläufig auf die Seite gestellt (vgl. S. 45).

Aus der entbleiten *Flüssigkeit F* wurde durch Einleiten von Kohlensäure der überschüssige Schwefelwasserstoff entfernt. Die ursprünglich 7 l messende Flüssigkeit wurde hierauf stufenweise im Sikkotopf bis zum Trockenextrakt eingeengt, wobei jeweils mit dem Weitereinengen erst weitergefahren wurde, wenn es sich gezeigt hatte, dass aus den konzentrierten Lösungen keine Ausscheidungen

eintraten. Der braune, harzige und bitter schmeckende Rückstand betrug 35 g. Diese Fraktion enthielt ihrem Geschmack nach « Bitterstoff ». Die Bitterstoffe sind meistens in Weingeist und Wasser löslich und können aus letzterem Lösungsmittel durch Aether oder andere mit Wasser nicht mischbare Flüssigkeiten ausgeschüttelt werden. Nachdem es sich gezeigt hatte, dass das Extrakt zum Teil in Aether, Benzol, Essigäther, Petroläther und Chloroform löslich war, wurden 2 g Extrakt in 20 ccm Wasser gelöst und diese wässerige Lösung mit Aether ausgeschüttelt. Die Aetherlösung war gelb gefärbt. Nach dem Verdunstenlassen einer kleinen Probe dieser ätherischen Lösung auf dem Uhrglas blieb ein gelber, harziger, aromatisch riechender und bitter schmeckender Rückstand zurück. Der wässerige Anteil der Ausschüttelung schmeckte nicht bitter und wurde daher verworfen.

10 ccm der ätherischen Lösung wurden durch ein mit Aluminiumoxyd beschicktes Glasrohr, das einen Durchmesser von 1 cm und eine Höhe von 12 cm aufwies, chromatographiert. Das mit 7 ccm einer Mischung von absolutem Alkohol-Aether 1 + 9 entwickelte Bild zeigte im ultravioletten Licht eine obere ockerfarbene Zone, gefolgt von zwei blau fluoreszierenden Farbzonen, wovon die zweite besonders stark aufleuchtete und einen grünlichen Ton hatte. Der Durchlauf war gelb gefärbt und schmeckte bitter. Dieses Chromatogramm zeigte genau das gleiche Bild wie dasjenige, das bei der Vorprüfung der Bleisulfidniederschläge erhalten worden war (vgl. Fig. 14).

Gestützt auf diese Ergebnisse wurde das aus der Flüssigkeit F erhaltene Extrakt in 350 ccm Wasser gelöst. Diese fast 10prozentige wässerige Lösung wurde anschliessend mit Aether perforiert. Das ca. 200 ccm betragende Perforat wurde mit demjenigen aus der Bleisulfidauskochung vereinigt. Die nun 300 ccm messende ätherische Lösung wurde analog den Vorversuchen durch eine mit Aluminiumoxyd beschickte Röhre, die einen Durchmesser von 2,5 cm und eine Höhe von 40 cm aufwies, chromatographiert. Die Entwicklung zum fertigen Chromatogramm erfolgte mit 210 ccm einer Mischung von absolutem Alkohol-Aether 1 + 9. Die bereits aus den Vorversuchen und der Fig. 14 bekannte Adsorptionssäule wurde aus dem Glasrohre herausgestossen und in die 3 Farbzonen I, II und III zerlegt. Aus dem gelben Chromatogrammdurchlauf wurde nach dem Verdunstenlassen des Lösungsmittels ein gelber, nicht ganz 0,5 g betragender harziger Rückstand erhalten, der bitter schmeckte und als «Bitterstoff» beiseitegestellt wurde (vgl. S. 49).

Die *Farbzone I* wurde mit Methylalkohol eluiert und das Elutionsmittel im Vakuum verjagt. Der zurückbleibende braune, harzige Rückstand schmeckte nicht bitter und wurde nicht weiter untersucht.

Die *Farbzone III,* das heisst die Zone, die unter der Quarzlampe besonders intensiv blaugrün fluoreszierte, wurde mit Methylalkohol eluiert. Das Eluat wurde mit Tierkohle am Rückfluss gereinigt und von der Kohle abfiltriert. Bevor die Kohle verworfen wurde, wurde sie mit Methylalkohol ausgekocht, da der die blaue Fluoreszenz bewirkende Stoff, wie beim Aetherextrakt (vgl. S. 31) beobachtet worden war, durch Kohle adsorbiert worden war. Diese Auskochung wurde mit dem Eluat vereinigt und das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert. Den braunen, schmierigen, ca. 0,5 g betragenden Rückstand löste man in 50 ccm Benzol und chromatographierte diese Lösung wieder durch Aluminiumoxyd. Das entwickelte Bild zeigte im ultravioletten Licht eine obere braune Zone, die verworfen wurde, und die bereits bekannte, intensiv blaugrün fluoreszierende Farbstoffzone. Sie wurde mit Methylalkohol eluiert und das Elutionsmittel im Vakuum verjagt. Der Rückstand bestand aus nicht ganz 0,3 g kleinen, gelben Kristallnadeln, die in kaltem Wasser sehr schlecht löslich waren, sich in heissem Wasser etwas, in Methylalkohol gut lösten, dagegen in Benzol, Aether und Chloroform wieder fast unlöslich waren. In verdünnter Natronlauge lösten sie sich spielend leicht mit goldgelber Farbe. Auch diese alkalische Lösung fluoreszierte unter der Quarzlampe intensiv blau. Mit Salzsäure versetzt, verschwand die bei Tageslicht gelbe Färbung der alkalischen Lösung, im ultravioletten Licht hingegen blieb die blaue Fluoreszenz bestehen. Eine alkalische Lösung der Farbstoffkristalle wurde mit Salzsäure angesäuert und einige Zeit gekocht. Mit Fehlingscher Lösung gekocht trat Reduktion ein.

Bei der Bestimmung des Schmelzpunktes sanken die Kristalle im Schmelzröhrchen bei 120 ° zusammen, wurden bei 290 ° braun und schmolzen undeutlich bei 318 °—325 °. Mit wenigen Farbstoffkristallen wurde mit Quercetin Merck ein Mischschmelzpunkt bestimmt. Das verwendete Quercetin Merck verlor bei 115 ° sein Kristallwasser, wurde bei 270 ° dunkel und schmolz bei 306 °—308 °. Bei der Bestimmung des Mischschmelzpunktes wurde die Mischung bei 270 ° dunkel und schmolz unscharf zwischen 298 °—302 °. Da die aus der Iva isolierten Farbstoffkristalle bei 318 °—325 ° schmolzen, liess diese grosse Depression den Schluss zu, dass es sich bei diesen Kristallen nicht um Quercetin handeln konnte.

Es wurde versucht, die Kristalle durch Umkristallisation aus allen möglichen Lösungsmitteln und Mischungen von solchen rein zu erhalten. Sie kristallisierten jedoch erst aus, wenn die jeweiligen Lösungen Sirupkonsistenz angenommen hatten.

Die Kristalle wurden heiss in einer Mischung von gleichen Teilen absolutem Alkohol, Benzol und Chloroform aufgenommen. Dabei

blieb ein geringer harziger Anteil ungelöst zurück. Er wurde in etwas verdünnter Natronlauge gelöst und diese Lösung mit Fehlingscher Lösung gekocht, wobei Reduktion eintrat. Aus der Alkohol-Benzol-Chloroformlösung der Farbstoffkristalle wurden diese wieder erhalten, nachdem das Lösungsmittel verdunsten gelassen worden war. Bei der Bestimmung des Schmelzpunktes konnte keine Veränderung beobachtet werden. Die Kristalle waren hygroskopisch. Einige Kristalle wurden mit heissem, angesäuertem Wasser gekocht und mit Fehlingscher Lösung geprüft: es erfolgte keine Reduktion. Trotz der durch die organische Lösungsmittelmischung erzielten Trennung wurden noch keine reinen Kristalle erhalten, was sich am unveränderten Schmelzpunkt zeigte. Neben dem Verhalten bei der Schmelzpunktbestimmung liessen die folgenden Reaktionen darauf schliessen, dass die Farbstoffkristalle einen flavonartigen Körper darstellten. Dies war der Fall bei der Reduktionsreaktion nach *Noak* [37]). Einige wenige Farbstoffkristalle wurden in Amylalkohol gelöst und mit Zink, Magnesiumspähnen und einigen Tropfen konzentrierter Salzsäure versetzt. Die abfiltrierte Amylalkohollösung färbte sich nach dem Erhitzen schwach rot. Mit Quercetin beispielsweise entsteht durch die *Noaksche Reaktion* eine intensive Rotfärbung. Weiter wurden wenige Farbstoffkristalle in heissem absolutem Alkohol aufgenommen und mit einer alkoholischen Ferrichloridlösung versetzt. Die eingetretene Grünfärbung blieb auch nach dem Erhitzen bestehen.

Trotzdem eine neuerliche chromatographische Probe nur eine einzige Adsorptionszone zeigte, konnten die Farbstoffkristalle ihres unscharfen Schmelzpunktes wegen nicht als rein angesehen werden, so dass man nicht daran denken konnte, eine Elementaranalyse auszuführen. Es wurde vielmehr versucht, durch Bestimmen des Schmelzpunktes des Azetylderivates den Stoff zu identifizieren. Zur Darstellung des Azetylderivates wurde die von *Kôzo Hayashi* [38]) angewandte Methode der Quercetinazetylierung gewählt. 0,2 g Farbstoffkristalle wurden in 5 ccm Essigsäureanhydrid gelöst, die gelbbraune Lösung mit einigen Tropfen Pyridin versetzt und verschlossen während 12 Stunden stehen gelassen. Das Reaktionsprodukt goss man in Wasser, wobei sich nach 12 Stunden kleine, schwach rosa gefärbte Nadeln ausschieden. Sie wurden abzentrifugiert, gut mit eiskaltem Wasser gewaschen und aus absolutem Alkohol umkristallisiert. Dabei trat die Kristallbildung erst ein, als die Lösung Sirupkonsistenz angenommen hatte. Auch aus verdünntem Alkohol erfolgte keine günstigere Auskristallisation. Die nach dem Verdunsten des Lösungsmittels erhaltenen Kristalle hatten

[37]) **Klein G.,** a. a. O., Bd. III.

[38]) **Acta physochimica,** Bd. XI, H. 1, S. 88.

einen unscharfen Schmelzpunkt von 180 °—184 °, nachdem die Substanz bereits bei 78 °—80 ° zum erstenmal flüssig geworden war. Nach dieser Schmelzpunktbestimmung verblieb nur noch eine äusserst geringe Menge des azetylierten Farbstoffes, so dass die Weiteruntersuchung hier abgebrochen werden musste.

Die *Farbzone II* (vgl. S. 45), das heisst die Zone, die unter der Quarzlampe blau fluoreszierte, wurde genau gleich aufgearbeitet wie die Farbzone III. Die aus ihr erhaltenen gelben Farbstoffkristalle besassen dieselben physikalischen und chemischen Eigenschaften wie die aus der Farbzone III erhaltenen. Sie wurden gleich wie diese azetyliert. Die wenigen verbliebenen azetylierten Farbstoffkristalle der Zone III wurden zu den neu dargestellten aus der Zone II gegeben, wobei im ganzen nur 0,1 g erhalten wurden.

Es wurde versucht, durch Fällung ein reines Azetylderivat mit einem scharfen Schmelzpunkt zu erhalten. Die Kristalle wurden zu diesem Zweck in absolutem Alkohol gelöst und zu dieser Lösung bis zur bleibenden Trübung vorsichtig Chloroform gegeben. Aus der Lösung hatten sich nach 12stündigem verschlossenem Aufbewahren in der Kälte rein weisse Kristallnadeln ausgeschieden. Bei der Bestimmung des Schmelzpunktes wurden sie bei 120 ° flüssig, um sofort wieder fest zu werden, und schmolzen bei 180 °. Aus der Mutterlauge wurden in ganz geringer Menge, die eben zu einer Schmelzpunktbestimmung ausreichte, gelbe Kristallnadeln erhalten vom Schmelzpunkt *320 °—322 °*. Der gelbe Flavonfarbstoff musste also nicht vollständig azetyliert worden sein.

Das Tetraazetylkämpferol verhält sich bei der Bestimmung des Schmelzpunktes ähnlich, indem es nach Literaturangaben bei 116 ° flüssig, bei 120 ° wieder fest wird und bei 181 ° — 182 ° endgültig schmilzt [39]). Das Chemische Institut der Universität Bern [40]) überliess mir als Vergleichssubstanz synthetisches Kämpferol. Dieses besass einen Schmelzpunkt von *276 °—277 °*. Der Unterschied zum Schmelzpunkt der aus der Iva erhaltenen Farbstoffkristalle war derart gross, dass es sich bei diesen nicht um Kämpferol handeln konnte, um so mehr, als eine Bestimmung des Mischschmelzpunktes eine grosse Depression ergab, indem die Mischkristalle bei 268 ° dunkel wurden und ein genaues Schmelzen nicht beobachtet werden konnte.

Die minime Ausbeute und die Tatsache, dass durch das Azetylderivat des Farbstoffes dieser nicht identifiziert werden konnte, veranlassten mich, durch Verseifung des Azetylderivates wenn möglich wieder zum ursprünglichen Körper zu gelangen. Zu diesem

[39]) Biochemisches Handlexikon, Bd. VI, S. 62.

[40]) Ich möchte an dieser Stelle für diesen liebenswürdigen Dienst bestens danken.

Zwecke wurden die Kristalle mit 10 ccm 0,5-n alkoholischer Kalilauge erhitzt. Dabei erfolgte schon nach kurzer Zeit eine Ausscheidung. Die verseifte Lösung wurde mit Wasser verdünnt. Die amorphe Ausscheidung wurde abfiltriert. Nach dem Trocknen im Exsikkator wurde ihr Schmelzpunkt genommen. Bis 300 ° trat keine Veränderung ein, dann wurde die Substanz schwarz und ein Schmelzen konnte nicht beobachtet werden.

Der verbleibende Rückstand des verseiften Azetylderivates war so gering, dass eine weitere Verarbeitung unterbleiben musste.

Zusammengefasst ergaben diese Untersuchungen also folgende Resultate:

Aus den *Niederschlägen A und B* wurden 0,2 g eines *Catechins* vom Schmelzpunkt 150 °—151 ° isoliert, das mit dem Catechin aus Cola identifiziert werden konnte. Daneben wurden aus denselben Niederschlägen *Farbstoffkristalle* erhalten, die bei der Bestimmung des Schmelzpunktes bei 120 ° zusammensinterten, bei 290 ° dunkelbraun wurden und bei 318 °—325 ° schmolzen. Beim Versuch, sie mit Essigsäureanhydrid und entwässertem Natriumazetat zu azetylieren, wurden sie zersetzt.

Aus dem Chromatogrammdurchlauf des Niederschlages B wurde ein in weissen Nadeln auskristallisierender Körper erhalten, der bei 127 ° schmolz und dessen Azetylderivat einen Schmelzpunkt von 106 ° besass.

Die *Flüssigkeit F* lieferte neben dem als « *Bitterstoff* » bezeichneten harzartigen Körper ebenfalls gelbe Farbstoffkristalle, die beim Bestimmen des Schmelzpunktes bei 120 ° das Kristallwasser verloren, bei 290 ° dunkelbraun wurden und bei 318 °—325 ° schmolzen. Ihr Azetylderivat wurde erstmals bei 78 °—80 ° flüssig, um dann bei 180 °—182 ° endgültig zu schmelzen. Ihre Identifizierung scheiterte, doch ist es sicher, dass sie weder Quercetin noch Kämpferol sein können.

4. Der Bitterstoff.

Die im Laufe der Untersuchungen aus dem Aether-Chloroform- und Methylalkoholextrakt als « Bitterstoff » beiseitegestellten harzigen Stoffe (vgl. S. 27, 28, 30, 31, 35, 45) betrugen in ihrer gesamten Ausbeute 1,8 g. In heissem Wasser, Aethyl- und Methylalkohol löste er sich gut, teilweise auch in Azeton, dagegen fast nicht in Aether, Essigäther, Benzol und Chloroform. Der « Bitterstoff » wurde solange mit Azeton durchgearbeitet, bis der Rückstand nicht mehr bitter schmeckte. Letzterer stellte eine braune, harzige Masse dar. Die Azetonlösung hinterliess nach dem Verjagen des Lösungsmittels im Vakuum eine goldgelbe, dicke und zähe Flüssig-

keit, die äusserst bitter schmeckte. Aus dieser liess sich nochmals ein nicht bitterer Anteil ausfällen, wenn sie in wenig Azeton aufgenommen und vorsichtig mit Wasser versetzt wurde. Ebenfalls ein nicht bitterer Anteil wurde erhalten, wenn der in absolutem Alkohol gelöste « Bitterstoff » mit einigen Tropfen Chloroform versetzt wurde. Auf diese zuletzt beschriebene Weise wurde der Rest des « Bitterstoffes » von seinem nicht bitter schmeckenden Begleitstoff befreit. Der « Bitterstoff » hatte nach dieser Reinigung in seinen Löslichkeitsverhältnissen insofern eine Aenderung erfahren, als er sich jetzt in Aether und Benzol bis auf einen kleinen Rest löste. Er gab keine positive allgemeine Kohlehydratreaktion und reduzierte Fehlingsche Lösung auch nach Erwärmen mit verdünnter Salzsäure nicht. Infolge der geschilderten Reinigung hatte die Menge des «Bitterstoffes» auf 0,6 g abgenommen. Er wurde nun in viel Wasser gelöst und diese Lösung mehrmals mit Aether ausgeschüttelt, bis der wässerige Anteil der Ausschüttelung nur noch schwach bitter schmeckte. Die mit entwässertem Natriumsulfat getrockneten Aetherausschüttelungen wurden vereinigt. Sie hinterliessen nach dem Entfernen des Aethers wiederum die goldgelbe, harzige Masse, die nicht ganz 0,5 g ausmachte und welche nach wochenlangem Stehen im Vakuumexsikkator winzige Kristallnadeln eingeschlossen enthielt. Diese Kristalle liessen sich aber durch kein Lösungsmittel abtrennen. Deshalb wurde der Rückstand in 50 ccm Benzol aufgenommen und diese Lösung durch Aluminiumoxyd chromatographiert. Der bitter schmeckende Teil erschien im Durchlauf, während in der Säule neben einer kleinen oberen braunen Zone eine im ultravioletten Licht blau fluoreszierende Zone enthalten war. Die mit Methylalkohol eluierte braune Zone lieferte einen amorphen, nicht bitteren Rückstand, ähnlich dem als azetonunlöslichen Teil des « Bitterstoffes » erhaltenen. Die blau fluoreszierende Zone wurde nicht mehr untersucht. Im Laufe der chromatographischen Untersuchungen aller drei Extrakte wurden im ultravioletten Licht blau fluoreszierende Zonen erhalten, die den flavonartigen Farbstoff enthielten, so dass auch hier dieser Farbstoff die Ursache der Farbzone sein dürfte.

Der Chromatogrammdurchlauf wurde filtriert, um ihn von allfällig mitgeschwemmtem Aluminiumoxyd zu befreien. Nachher wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Den gelben, harzigen Rückstand stellte man in den Exsikkator, wobei in der 0,4 g betragenden Masse sich nach mehreren Wochen wiederum kleine Kristallnadeln gebildet hatten, ohne dass es jedoch auch diesmal gelungen wäre, sie aus ihrem harzigen Einschlussmittel zu befreien. Das Harz wurde deshalb nochmals in 40 ccm Benzol gelöst und chromatographiert. Als Adsorbens wurde standarisiertes Aluminiumoxyd

genommen. Das mit einer Mischung von absolutem Alkohol-Benzol 1 + 9 entwickelte Adsorbat wies wiederum eine obere braune und eine kleine, unter der Quarzlampe blau fluoreszierende Zone auf. Daneben zeigte es eine im ultravioletten Licht graublau erscheinende untere Zone. Der Durchlauf lief farblos ab und hinterliess nach dem Eindunsten des Lösungsmittels keinen Rückstand.

Die Adsorptionssäule wurde aus dem Glasrohr herausgestossen und die im ultravioletten Licht graublaue Farbzone herausgeschnitten. Sie wurde mit Methylalkohol eluiert. Nach dem Abdestillieren des Elutionsmittels wurde abermals ein gelber, harziger Rückstand erhalten, der sich in einen *ätherlöslichen Anteil A* und einen *ätherunlöslichen Anteil B* zerlegen liess. Beide schmeckten bitter.

Der *ätherunlösliche Anteil B* wurde aus einer Benzollösung durch standarisiertes Aluminiumoxyd chromatographiert. Das Adsorbat wurde solange mit Benzol, dem einige Tropfen Methylalkohol beigemischt worden waren, entwickelt, bis der bitter schmeckende Anteil im Durchlauf enthalten war. Dieser wurde filtriert und das Lösungsmittel abdestilliert. Zurück blieb abermals der gelbe, harzige Körper. Nach wochenlangem Aufbewahren im Vakuumexsikkator war keine Kristallisation erfolgt. Dieser Rückstand wog nicht ganz 0,1 g. Eine abermalige Prüfung auf Kohlehydrate verlief negativ, ebenso die Reaktion mit Fehlingscher Lösung. Die allgemeine Prüfung auf Alkaloide mit Kaliumquecksilberjodid war ebenfalls negativ.

Aus dem *ätherlöslichen Anteil A* wurde nach dem Verdunstenlassen des Aethers ebenfalls ein goldgelber, harziger Rückstand erhalten, der nach kurzem Stehenlassen im Exsikkator voller kleiner Nadeln war. Diese liessen sich durch kein Lösungsmittel rein aus dem Einschlussmittel herausbekommen. Auch nach dem nochmaligen Umkristallisieren aus einer Benzollösung in standarisiertem Aluminiumoxyd wurde kein besseres Resultat erhalten. Die im ultravioletten Licht grau gefärbte Zone wurde mit Methylalkohol eluiert. Nach gründlicher Filtration wurde das Elutionsmittel in Vakuum abdestilliert.

Die Hälfte der zurückbleibenden gelben und harzigen Schmiere wurde in 2 ccm Essigsäureanhydrid aufgenommen, mit 0.2 g entwässertem Natriumazetat versetzt und 1 Stunde im Azetylierungskolben erhitzt. Das Reaktionsprodukt wurde in 200 ccm Wasser gegossen. Die milchige Flüssigkeit roch angenehm fruchtartig. Sie wurde mit Aether ausgeschüttelt. Nach dem Verdunsten des Aethers blieb eine grünliche Schmiere zurück, die bitter schmeckte.

Der Rest des Rückstandes wurde mit 20 ccm gesättigter weingeistiger Natronlauge auf kochendem Wasserbade am Rückflusskühler während 1 Stunde verseift. Die rote Lösung wurde mit Wasser verdünnt und im Scheidetrichter mit Aether ausgeschüttelt.

Der Aether wurde abdestilliert, zurück blieb wiederum die gelbe, harzige und bitter schmeckende Schmiere.

Der aus allen drei Extrakten erhaltene harzige « Bitterstoff » konnte mit Hilfe der chromatographischen Adsorptionsanalyse nicht analysiert werden. Die Tatsache, dass schlussendlich der Bitterstoff in einen ätherlöslichen und einen ätherunlöslichen Anteil getrennt werden konnte, besagt noch nicht, dass *zwei* verschiedene Bitterstoffe vorliegen. Die ausgeführten Prüfungen auf Kohlehydrate, Glukoside und Alkaloide verliefen negativ. Der Bitterstoff liess sich nicht azetylieren. Damit konnten die Untersuchungen *Plantas* nicht bestätigt werden, nach denen in der Iva zwei Bitterstoffe von glukoalkaloidischer Natur vorhanden seien.

5. Extrakt mit 10prozentigem Alkohol.

Dieses Extrakt bestand aus einer braunen, nicht mehr bitter schmeckenden Masse im Gewicht von 21,5 g, was einem Gehalt von 0,71% entspricht. Es löste sich in Wasser und stark verdünntem Alkohol, war in Alkohol, Methylalkohol und Azeton sozusagen unlöslich und gab an Aether, Benzol und Chloroform überhaupt nichts ab. Die wässerige Lösung reduzierte Fehlingsche Lösung. Sie wurde mit Eisenchlorid grün. Mit Bleiazetat versetzt, trat eine amorphe, braune Fällung ein. Das Filtrat wurde durch Bleiessig nicht mehr gefällt. Mit Alkohol fraktioniert gefällt, wurden nur braune Schmieren erhalten. Ein Teil des Extraktes wurde verascht. In der weissgrünen Asche waren Sulfat, Chlorid und Karbonat nachzuweisen. Die schwach grün gefärbte Lösung wurde nach Zusatz eines Tropfens Salzsäure violett.

Ein Probechromatogramm einer wässerigen Lösung zeigte im ultravioletten Licht eine obere braune Zone, gefolgt von einer grösseren gelben Zone. Die braune Zone wurde mit methylalkoholhaltigem Wasser eluiert. Das Eluat gab mit Eisenchlorid eine Grünfärbung.

Die Farbreaktion mit Eisenchlorid deutete darauf hin, dass Gerbstoffe enthalten waren. Deshalb wurde versucht, durch Ausschütteln einer wässerigen Lösung des Extraktes mit Essigäther die Gerbstoffe zu isolieren. Nach dem Verjagen des Essigäthers im Vakuum wurde der zurückbleibende Rückstand in wenig heissem Wasser aufgenommen. Trotz wiederholten Umkristallisationsversuchen wurden aber keine kristallinischen Anteile erhalten. Der amorphe Rückstand gab jedoch die für das Catechin typischen Reaktionen.

Eine weitere Aufarbeitung erschien aussichtslos, da auf Grund der erwähnten Proben anzunehmen war, dass das Extrakt doch zum grössten Teil aus anorganischen Substanzen bestand.

III. Zusammenfassung.

1. Ueber die Inhaltsstoffe der Herba Achilleae moschatae liegen zwei Arbeiten vor. Die eine, aus dem Jahre 1870, von *Planta* ausgeführt, gibt an, dass in der Iva ausser dem ätherischen Oel und einem aromatischen Körper, Ivain genannt, *zwei* amorphe Bitterstoffe enthalten seien, Achillein und Moschatin, welche beide Glukoalkaloide darstellen sollen. Die zweite Arbeit, zwanzig Jahre später von *Bruns* veröffentlicht, legt dar, dass in der Iva neben dem ätherischen Oel und einem den aromatischen Anteil darstellenden Weichharz nur *ein* Bitterstoff vorhanden ist, der möglicherweise ein Kohlehydrat ist oder den Kohlehydraten sehr nahe steht.

Ausser diesen beiden Gesamtuntersuchungen der Achillea moschata sind Arbeiten aus den *Berichten von Schimmel* und von *Gawalowsky* über das *ätherische Oel* bekannt.

2. Vorversuche, in denen verschiedene Extrakte chromatographiert wurden, gaben den Weg zur Aufarbeitung der Droge an. Die gepulverte Droge wurde nacheinander mit Aether, Chloroform, Methylalkohol und 10prozentigem Alkohol extrahiert.

3. Das Aetherextrakt lieferte bei der Aufarbeitung einen petrolätherlöslichen und einen petrolätherunlöslichen Anteil. Im petrolätherlöslichen Teil wurde ein Gemisch von *Palmitin- und Stearinsäure,* im petrolätherunlöslichen Teil *reine Palmitin-* und *Stearinsäure* festgestellt.

4. Aus dem Chloroformextrakt konnte ein *Sterin* isoliert werden, dessen Azetylderivat einen Schmelzpunkt von 118°—120° aufwies. Daneben wurde wieder *Palmitinsäure* erhalten. Ferner wurde ein aus orangeroten Nadeln bestehender Körper vom Schmelzpunkt 160°—164° gefunden, der *unreines Carotin* sein dürfte.

5. Das nach der Bleimethode aufgearbeitete Methylalkoholextrakt enthielt einen *flavonartigen Farbstoff,* der beim Erhitzen bei 120° zusammensinterte, bei 290° braun wurde und bei 318°—325° unter Zersetzung schmolz. Sein Azetylderivat schmolz erstmals bei 78°—80°, um nachher fest zu werden und bei 180°—184° endgültig zu schmelzen.

Aus dem Bleiazetat- und Bleiessigniederschlag wurde *Catechin* vom Schmelzpunkt 150°—151° isoliert, das mit Colacatechin identisch war.

Im Bleiessigniederschlag war ein nicht näher bekannter kristallinischer Stoff enthalten, der einen Schmelzpunkt von 127° aufwies und dessen Azetylierungsprodukt bei 106° schmolz.

6. In allen drei Extrakten wurde ein gelber, harziger und bitter schmeckender Stoff gefunden, der durch die chromatographische Adsorption wohl von nicht bitteren Begleitstoffen gereinigt werden konnte, dessen Reindarstellung jedoch nicht gelang. Dieser « Bitterstoff » der in einen ätherlöslichen und einen ätherunlöslichen Anteil zerlegt werden konnte, war vollständig in Wasser löslich. Er liess sich nicht verseifen, gab keine positive Alkaloidreaktion und reduzierte Fehlingsche Lösung nicht. Damit werden die Untersuchungen *Bruns* bestätigt, dass in der Iva nur ein Bitterstoff enthalten ist und dass in ihr keine Glukoalkaloide nachzuweisen sind.

7. Im Extrakt mit 10prozentigem Alkohol konnten keine kristallisierenden Körper organischer Natur nachgewiesen werden, wohl aber die Anwesenheit von Gerbstoff.